Marlies Dworschak

DER HLA-DR- UND C2-POLYMORPHISMUS BEI ZÖLIAKIE

Diss. München
1984

Aus der Kinderpoliklinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Heinz Spiess

DER HLA-DR- UND C2-POLYMORPHISMUS BEI ZÖLIAKIE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Marlies Dworschak
aus
Landshut

1983

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Albert

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Spiess

Dekan: Prof. Dr. med. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 19. Januar 1984

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

Zu Beginn möchte ich all denen meine Dankbarkeit ausdrücken, die mich bei meiner Dissertation unterstützten.

Herr Prof. Dr. med. E.D. Albert sei hier an erster Stelle genannt. Er ermöglichte nicht nur diese interessante Untersuchung, sondern begleitete sie trotz seiner vielfältigen beruflichen Aufgaben mit Rat und Tat bis zur Fertigstellung des Manuskripts.

Mein Dank gilt dann Herrn Univ.-Dozent Dr. E. Rossipal, der mit großem organisatorischem Talent die Untersuchungsreihe an Patienten der Universitätskinderklinik in Graz ermöglichte.

An dieser Stelle danke ich auch den anderen Mitgliedern der Grazer Arbeitsgruppe, vor allem Herrn Dr. S. Scholz, Frl. Gabriele Bonnländer sowie Frau Wallis.

Für die technischen Instruktionen und Ratschläge bei der C2-Typisierung möchte ich mich bei Herrn Priv.-Dozent Dr. med. Thomaso Meo und den Mitarbeitern seines Labors recht herzlich bedanken.

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I. EINLEITUNG

Definition und historische Daten zum Krankheitsbild der Zöliakie 1

II. THEORETISCHE GRUNDLAGEN 3

1. Das HLA-System und seine Beziehung zu verschiedenen Erkrankungen 3

2. Das HLA-System in Verbindung zur Zöliakie 6

3. Verbindung zwischen Komplementsystem und HLA-System 8

4. Das Komplementsystem (v.a. C 2 und C 4) in seiner Beziehung zu verschiedenen Erkrankungen 9

III. AUFGABENSTELLUNG 16

1. Beweis der primären Assoziation des bzw. der Krankheitsempfänglichkeitsgene für Zöliakie mit dem HLA-DR-Genlocus

2. Untersuchung einer eventuell noch engeren Assoziation des Krankheitsempfänglichkeitsgens mit dem C 2-System

IV. MATERIAL UND METHODEN 18

1. Allgemeines 18
1.1 Patientenauswahl 18
1.2 Datenmaterial 18
1.3 Diagnosekriterien 18
1.3.1 Anamnese und klinischer Befund 19
1.3.2 Saugbiopsie der Dünndarmschleimhaut 20
1.3.3 Chemische Untersuchungen 20

Seite

2. HLA-Typisierung 21
2.1 T-Zell-Präparation 21
2.2 B-Zell-Präparation 23

3. C 2-Typisierung 24
3.1 Isoelektrische Focussierung 24
3.1.1 Herstellen eines Polyacrylamid-Gels im Vakuum-Kolben 24
3.1.2 Probenauftragung 25
3.1.3 Laufbedingungen 25
3.2 Lytische Darstellung 26

4. Statistische Methoden 27
4.1 Chi²-Wert 27
4.2 p-Wert 28
4.3 Relatives Risiko 28
4.4 Berechnung der Haplotypfrequenzen nach Wahrscheinlichkeitskriterien 29

V. RESULTATE 31

1. Phänotypfrequenzen 31
1.1 HLA-A-Genlocus 31
1.2 HLA-B-Genlocus 32
1.3 HLA-DR-Genlocus 34

2. C 2-Phänotypen und C 2-Genfrequenzen 37

3. Haplotypfrequenzen 38
3.1 HLA-A-B-Haplotypen 38
3.2 HLA-A-B-DR-Haplotypen 39

4. Heterozygotenhäufigkeit und damit verbundenes relatives Risiko (RR) für eine Erkrankung 40

VI. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE 43

Seite

VII. ZUSAMMENFASSUNG UND MÖGLICHE ANSATZPUNKTE ZUR WEITEREN KLÄRUNG DER PATHOGENESE DER ZÖLIAKIE 47

VIII. TABELLEN I - IX 49

IX. LITERATURVERZEICHNIS 68

I. EINLEITUNG

Definition und historische Daten zum Krankheitsbild der Zöliakie

Bei der Zöliakie (auch Herter-Heubnersche Krankheit bzw. intestinaler Infantilismus genannt) handelt es sich um eine familiär gehäuft auftretende und lebenslang anhaltende Enteropathie, die im Säuglingsalter jenseits des 4. Lebensmonats, aber auch im Erwachsenenalter (als Sprue bezeichnet) auftritt, wobei als Auslösefaktoren Kleberproteine aus Weizen, Roggen, Gerste und Hafer fungieren. Es handelt sich dabei um schwer verdauliche Eiweiße, die aufgrund ihres hohen Prolin- und Glutamingehalts zur Gruppe der Prolamine gerechnet werden. Speziell durch das im Weizen- und Roggenmehl enthaltene Gliadin sowie das Hordein der Gerste und das Avenin des Hafers kommt es zu einer hochgradigen Zottenatrophie der Dünndarmschleimhaut, was infolge einer Verringerung der resorbierenden Oberfläche zur Ausbildung einer Malabsorptionssymptomatik führt (35).
Medizingeschichtlich läßt sich das Vorkommen der Zöliakie wahrscheinlich bis in die Zeit der Römer zurückverfolgen (Haas). Dem englischen Arzt Samuel Gee verdanken wir eine klassische Beschreibung in seiner Publikation "On the Celiac Affection" aus dem Jahre 1888. Er vermutete bereits einen "Diätfehler" als Krankheitsursache. Fälschlicherweise nahm er jedoch an, daß es sich um eine Affektion des Dickdarms (= Coelia) handle, woraus vermutlich die Bezeichnung Zöliakie entstand (23)

Obwohl schon zu Beginn des 20. Jahrhunderts verschiedene diätetische Therapien bekannt waren (1909 Muttermilch/

Heubner; 1921 proteinreiche Bananendiät/Haas), erfolgte die entscheidende Entdeckung der schädigenden Wirkung des Gliadins erst 1950 durch das holländische Team Weijers, Dicke und van de Kamer (47). Für die Diagnosestellung von entscheidender Bedeutung war die Einführung der Dünndarmbiopsie bei Kindern durch Shiner und Doniach (88) und die Schule Rubins (81).

II. THEORETISCHE GRUNDLAGEN

1. Das HLA-System und seine Beziehung zu verschiedenen Erkrankungen

Auf dem kurzen Arm des Chromosoms Nr. 6 liegen beim Menschen zahlreiche Gene, die dadurch entdeckt wurden, daß ihre Genprodukte wichtige Zielstrukturen bei der Abstoßung von Transplantaten darstellen. Diese Genprodukte können mit Hilfe von Antikörpern auf der Zelloberfläche von Leukozyten und anderen Gewebezellen nachgewiesen werden, was zur Bezeichnung Transplantations- oder Gewebeantigene führte. Daher hat dieser Chromosomenabschnitt die Bezeichnung MHC (= Major Histocompatibility Complex) erhalten. Er zeigt bei fast allen Vertebraten einen gleichartigen Aufbau und wird beim Menschen als HLA-System (= human lymphocyte system A) bezeichnet (9).

Der HLA-Komplex umfaßt die 4 Genloci A, B, C und D. Diese weisen multiple Allelie auf, wobei der Genlocus A 20, B 31, C 8 und D 11 Allele besitzt. Sie werden kodominant vererbt (42) und im Mikrolymphocytotoxitätstest nach Terasaki und McClelland bestimmt. Die klassischen Transplantationsantigene werden von den drei eng gekoppelten Genorten HLA-A, HLA-B- und HLA-C kodiert. Diese Antigene sind auf der Zelloberfläche aller kernhaltigen Zellen exprimiert. Die vom HLA-D Genlocus kodierten Antigene werden im MLC-Test (Mixed leucocyte culture) oder mit serologischen Methoden (Dw-Antigene bzw. DR-Antigene) bestimmt und befinden sich nur auf B-Lymphocyten, Makrophagen, Monocyten und bestimmten Endothelzellen, nicht aber auf ruhenden T-Lymphocyten (71)

Man nimmt an, daß diese Gene der HLA-D-Region ein Analogon zu den Ir- (= immune-response) Genen der Maus darstellen,

die die für T-lymphocytenabhängige Immunreaktionen verantwortlichen Antigene (= Ia-Antigene = immune-response-gene associated) kodieren (42).
Durch Studien an Versuchstieren angeregt (Lilly fand eine Assoziation zwischen dem H2-System und bestimmten Virusleukämieformen bei Mausinzuchtstämmen (3,54,55,56,57)), begann man auch beim Menschen nach Beziehungen zwischen bestimmten HLA-Antigenmustern und verschiedenen Krankheiten zu suchen. Als erster konnte 1967 Amiel beim Morbus Hodgkin eine Häufung des Antigens 4C (heute B 5, B 18, Bw 35) feststellen (3).
Man fand Erkrankungen, die primär mit dem HLA-A Genocus gekoppelt zu sein scheinen, wie z.B.

Akute lymphoblastische Leukämie	HLA-A 2
Idiopathische Hämochromatose	HLA-A 3

Viel häufiger fand man allerdings eine Assoziation mit dem HLA-B Locus, wie z.B. bei folgenden Erkrankungen:

Morbus Bechterew	HLA-B 27
Morbus Reiter	HLA-B 27
Juvenile rheumatische Arthritis	HLA-B 27
Thyreoiditis de Quervain	HLA-Bw 35

Bei den meisten HLA-assoziierten Krankheiten ist aufgrund neuerer Ergebnisse eine primäre Assoziation mit dem D- bzw. DR-Genlocus festgestellt worden:

Thyreotoxikose	DR 3
Morbus Addison	DR 3
Chronisch aggressive Hepatitis	DR 3
Myasthenia gravis	DR 3
Juveniler Diabetes (IDDM)	DR 3/4
Multiple Sklerose (MS)	DR 2
Rheumatoide Arthritis	DR 4 u.v.a.

Die Tatsache, daß bestimmte Haplotypen bei diesen Krankheiten gehäuft auftreten, z.B.

A 1 - B 8 - DR 3	bei Dermatitis herpetiformis
A 1 - B 8 - DR 3 A 2 - B 15 - DR 4 Aw 30 - B 18 - DR 3	bei juvenilem Diabetes mellitus (= insulin dependent diabetes mellitus = IDDM)
A 3 - B 7 - DR 2	bei multipler Sklerose (75),

beruht auf dem Phänomen eines Kopplungsungleichgewichts. Bestimmte Haplotypen treten dabei häufiger auf, als es bei einer Vererbung voneinander unabhängiger Merkmale zu erwarten wäre. Die Haplotypfrequenz müßte in diesem Fall dem Produkt der einzelnen Genfrequenzen entsprechen. Das Kopplungsungleichgewicht ist ein typisches Merkmal eng gekoppelter Genloci und wird z.B. auch im MNSs-, Rhesus- und Immunglobulin-Allotypen-System beobachtet (3).
Den Grad des Kopplungsungleichgewichts gibt der Delta-Wert an, die Differenz zwischen erwarteter und beobachteter Haplotypenfrequenz.
Man ist heute auch der Ansicht, daß die HLA-Antigene in einem Kopplungsungleichgewicht mit eng benachbarten Genen -- den Krankheitsempfänglichkeitsgenen -- stehen, denn die Direktbeteiligung der HLA-Antigene an einer bestimmten Erkrankung ist schon daher unwahrscheinlich, daß nicht in jedem Fall einer HLA-assoziierten Erkrankung das entsprechende HLA-Muster bei jedem Patienten gefunden wird und umgekehrt ein bestimmter HLA-Typ nicht in jedem Fall zur Erkrankung führt. Beim Vorliegen eines Kopplungsungleichgewichts stellen die HLA-Antigene gleichsam Marker für die eigentlichen Krankheitsgene dar, die wir noch nicht erfassen können (42).

Trotz der enormen Vielzahl HLA-assoziierter Erkrankungen sind ihnen einige Merkmale gemeinsam:

- ungeklärte Äthiologie und Pathogenese,
- familiäre Häufung ohne klaren Vererbungsmodus,
- multifaktorielles Geschehen, an dem Umwelteinflüsse und genetische Faktoren beteiligt sind,
- Störung des Immunsystems,
- klinisch verwandte Krankheiten zeigen auch im Hinblick auf die HLA-Assoziation ihre Verwandtschaft (71,3).

2. Das HLA-System in Verbindung zur Zöliakie

Die Zöliakie war eine der ersten Erkrankungen, bei der eine strenge Assoziation zum HLA-System entdeckt wurde (13). Im Jahre 1972 bereits konnten in den USA Falchuk und Mitarbeiter (30) sowie Stokes und Mitarbeiter (94) in England eine signifikant erhöhte Frequenz des Histokompatibilitätsantigens HLA-B 8 bei Zöliakiekranken nachweisen. Falchuk ermittelte 87,5 % HLA-B 8 positive Patienten im Vergleich zu nur 21,5 % einer Kontrollpopulation. Stokes fand 88 % HLA-B 8-Träger bei den Zöliakiepatienten verglichen mit 29,5 % einer Kontrollpopulation (58).
Verschiedene anschließend durchgeführte Familienstudien (Albert und Mitarbeiter 1973, Stokes und Mitarbeiter 1973, Ludwig und Mitarbeiter 1974, Harms und Mitarbeiter 1975) zeigten neben einer Frequenzerhöhung von HLA-B 8 auch eine signifikante Erhöhung des HLA-A 1 Allels bzw. des Haplotyps HLA-A 1-B 8. Es konnte jedoch gezeigt werden, daß die HLA-A 1-Erhöhung sekundär ist und auf dem Kopplungsungleichgewicht mit HLA-B 8 beruht (Albert 1973, Harms 1975)(78).

Die HLA-B 8-Erhöhung konnte in verschiedenen Ländern bestätigt werden (Albert, Evans, McNeish 1973, Ludwig 1974, Dausset & Hors, van Rood 1975, Seah, Solheim 1976, Strober 1977, Mackintosh & Asquith 1978). Es zeigten sich jedoch er-

hebliche Unterschiede hinsichtlich des Assoziationsgrades in den verschiedenen Populationen. Die Frequenzangaben für HLA-B 8 bei Zöliakie variierten zwischen 45,3 % (Dausset & Hors 1975) und 88,9 % (Seah und Mitarbeiter 1976).
In Populationen mit einer hohen Genfrequenz für HLA-B 8, wie z.B. Westirland, wo sie 46,6 % (Stevens und Mitarbeiter 1978) erreicht, ist auch die HLA-B 8-Frequenz bei Zöliakiekranken sowie die Inzidenzrate für Zöliakie (ca. 1/300, Mylotte und Mitarbeiter 1972) hoch.
In China und bestimmten Teilen Afrikas ist das HLA-B 8-Allel selten und auch die Erkrankung Zöliakie kommt kaum vor (58). Hier spielt auch die verminderte Glutenexposition der sich vornehmlich von Reis ernährenden Bevölkerung eine wesentliche Rolle.
Dies alles deutet jedoch darauf hin, daß nicht das HLA-B 8-Antigen selbst an der Pathogenese beteiligt ist, sondern ein eng mit diesem gekoppeltes Gen bzw. Gene, die man als Krankheitsempfänglichkeitsgene bezeichnet.
Mit der Entdeckung des HLA-D-Genortes in der Nachbarschaft von HLA-B gelang es Keuning und Mitarbeitern 1976 zu zeigen, daß die Zöliakie primär mit HLA-Dw 3 bzw. mit dem B-zellassoziierten Antigen DR 3 und nur sekundär -- wiederum infolge eines Kopplungsungleichgewichts -- mit HLA-B 8 assoziiert ist (47). Auch diese Assoziation zeigt erhebliche Variationen in verschiedenen Populationen (85). Keuning ermittelte eine Dw 3-Frequenz von 96 % bei den von ihm untersuchten Patienten.
Solheim und Mitarbeiter fanden eine DR 3-Frequenz von 61 % bei erwachsenen Patienten (1976) und Albert und Mitarbeiter eine von 64 % bei Kindern (1978) (13).

Neuere Untersuchungen zeigten eine Assoziation mit zwei verschiedenen HLA-DR-Antigenen:
DR 3 und DR 7,
die jedoch nur in den süd- und mitteleuropäischen Populatio-

nen (Süddeutschland, Frankreich, Spanien, Italien), aber nicht in Irland gefunden wurde (85).

3. Verbindung zwischen Komplementsystem und HLA-System

Die Bedeutung des HLA-Komplexes im Sinne einer immunologisch äußerst wichtigen Chromosomenregion wurde durch die Entdekkung von Kopplungsbeziehungen zu den Genen der 2. Komplementkomponente C 2 (durch Fu und Mitarbeiter 1974 (32) sowie Meo und Mitarbeiter 1976 (62)), der 4. Komplementkomponente C 4 (durch Rittner und Mitarbeiter 1975 (77), Teisberg und Mitarbeiter 1976 und 1977 (99,100), Ochs und Mitarbeiter 1977 (67) sowie Mauff und Mitarbeiter 1978 (59)) und des Faktors B der alternativen Komplementaktivierung Bf (= C 3 Proaktivator) 1974 durch Allen (5) erhärtet.
Ebenfalls benachbart sind Gene, die die Immunantwort überwachen (Ir-Gene, d.h. Immune-response Gene). Die Kopplung mit den angeführten Komplement-Genen ist so eng, daß sie als integraler Bestandteil des menschlichen MHC-Systems betrachtet werden können.
Bei verschiedenen anderen untersuchten Wirbeltierspezies (Maus, Meerschweinchen, Rhesusaffe) konnte dieselbe Situation festgestellt werden (Götze 1977 (34)).

Bemerkenswert im Hinblick auf die Lokalisation innerhalb der HLA-Region ist, daß die Genprodukte aller drei Genloci -- C 2, C 4 und Bf -- die zentrale Komponente der Komplementkaskade, das C 3-Protein aktivieren und damit eine wesentliche Rolle in der immunologischen Effektorphase spielen (Rittner 1976 (9)).
Die genaue Position der drei Genorte ist bislang noch nicht geklärt. Die relative Lage des Bf-Gens zwischen HLA-B und HLA-D/DR scheint jedoch nach Angaben von Olaisen und Mitarbeitern (68), Lamm und Mitarbeitern (50), Hauptmann und Mit-

arbeitern (40) und Rittner und Mitarbeitern (76,77) weitgehend gesichert (9). An dieser Stelle möchte ich auf genauere Ausführungen hinsichtlich des Bf-Faktors in der Doktorarbeit von Gabriele Bonnländer verweisen.
Auch der C 2-Genort liegt wahrscheinlich zwischen HLA-B und HLA-D/DR. Raum und Mitarbeiter (1978) geben allerdings eine Lokalisation außerhalb der HLA-D/DR-Region in Richtung auf den GLO-Locus (= Glyoxalase I) an.
Von Rittner und Bertrams konnte anhand von Untersuchungen an zwei Familien gezeigt werden, daß bei HLA-B-D/DR Rekombinanten das Bf- und C 4-Gen (und wahrscheinlich auch das C 2-Gen) mit dem HLA-D/DR-Fragment selektieren. Diese Befunde konnten Alper und Mitarbeiter in Boston anhand von 5 HLA-B-D/DR-Rekombinanten bestätigen. Dies ist auf jeden Fall für eine enge Nachbarschaft mit dem HLA-D/DR-Genlocus beweisend (75).

Der engen Kopplung entsprechend wurden Kopplungsungleichgewichte zwischen bestimmten HLA- und bestimmten Bf- (Olaisen 1975 (68), Albert, Bender 1977), C 2- (Meo 1976) und C 4-Allelen (Teisberg 1977, Mauff, Bender) beobachtet:

z.B.	HLA-B 8 : Bf^S	Bender (1977)
	HLA-Aw 25 : B 18 : $C\ 2^O$	Fu und Mitarbeiter (1975)
	HLA-B 15 : $C\ 2^2$	Meo und Mitarbeiter (1976)
	HLA-A 1 : B 8 : $C\ 2^1$: $C\ 4^S$	Mauff, Bender unpubliziert (9).

4. Das Komplementsystem (v.a. C 2 und C 4) in seiner Beziehung zu verschiedenen Erkrankungen

In letzter Zeit durchgeführte Untersuchungen zeigten, daß verschiedene Erkrankungen, von denen eine primäre Assoziation mit dem HLA-D/DR-Genlocus bekannt ist, gleichzeitig in Beziehung zu seltenen C 2- und C 4-Allelen sowie zu bestimmten

Bf-Allelen stehen. Grundsätzlich schließt sich an diese Erkenntnis die Frage an, ob diese Assoziation mit der Annahme eines starken Kopplungsungleichgewichts ausreichend erklärbar ist, oder ob auch eine funktionelle Beteiligung der jeweiligen Genprodukte an der Pathogenese der Erkrankungen eine Rolle spielt.
Ein in dieser Hinsicht von verschiedenen Forschergruppen untersuchtes Krankheitsbild ist der insulinabhängige Diabetes mellitus (IDDM). Bereits 1973 erkannten Singal und Blajchman die Assoziation zu HLA-B 15 (90), die 1974 von Nerup und Mitarbeitern bestätigt werden konnte (66). Dieser wies außerdem eine weitere Assoziation zu HLA-B 8 nach. Spätere Untersuchungen zeigten eine engere Assoziation zu HLA-DR 3 (Kopplungsungleichgewicht mit B 8) und HLA-DR 4 (Kopplungsungleichgewicht mit B 15) (104,67,8,10).
Daraufhin wurden eine Reihe von genetischen Modellen entwickelt, die diese Befunde zu erklären versuchten:

a) ein rezessives Vererbungsmodell mit vollständiger Penetranz (103,82),

b) ein dominantes Vererbungsmodell mit unvollständiger Penetranz (92),

c) kompliziertere Modelle, welche zwei HLA-gekoppelte Empfänglichkeitsgene für IDDM (Dw 3/DR 3 und Dw 4/DR 4) annehmen und ferner ein HLA-Dw 2/DR 2 gekoppeltes "Schutzgen" in Erwägung ziehen (72,44).

Auf dem VIII. International Histocompatibility Workshop in Los Angeles (1980) ging man daran, diese Modelle zu überprüfen. Es wurde eine Analyse anhand von 1200 HLA-typisierten Patienten verglichen mit 1600 Kontrollpersonen durchgeführt, die zu folgenden Ergebnissen führte (98):

1. Das relative Risiko für eine Erkrankung konnte für die Heterozygoten (DR 3/DR 4) höher angegeben werden als für Homozygote (DR 3/3 bzw. DR 4/4);

2. DR 4-Träger erkranken zu einem früheren Zeitpunkt als DR 3-positive Patienten;
3. 22,5 % der Patienten sind außerdem Träger des seltenen Bf F1-Allels.

Auf dem III. Workshop über die Genetik des Komplementsystems berichteten Bertrams und Mitarbeiter vom vermehrten Auftreten des seltenen C 2^2-Allels bei IDDM-Patienten mit schwerer proliferativer Mikroangiopathie. Das relative Risiko für gesunde Personen,an schwerer Mikroangiopathie zu erkranken, gab er folgendermaßen an:

2.1 für HLA-B 8, 2.9 für Cw 3, 3.1 für HLA- B 15, 4.7 für DR 3, 6.9 für DR 4, 4.0 für C 2^2 (11).

Lamm und Mitarbeiter konnten diese Befunde anhand von 64 dänischen Patienten bestätigen (1980) und berichteten außerdem erstmals von einer Assoziation zu C 4S (RR : 3.13) und zu C 4"g" (RR : 5.5) (51).
Aufgrund neuester Untersuchungen kennt man folgende 3 Haplotypen, die ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für IDDM darstellen und sich im Hinblick auf den Krankheitsbeginn unterscheiden:

HLA-B 18 - Bf F1 - DR 3 - C 4x"	(Erkrankungsalter 10 Jahre oder darunter)
HLA-B 15 - C 2^2 - Bf^S - C 4^M - DR 4	(20 Jahre und darüber)
HLA-B 8 - C 2^1 - Bf^S - C $4f^OS$ - DR 3	(unbestimmtes Erkrankungsalter)

Die Erkenntnis, daß C 2- und C 4-Proteine kininähnliche Aktivität besitzen, stützt die Theorie, daß die Genprodukte eine Rolle bei der Entstehung der Krankheit spielen. Im Falle des C 2^2-Genotyps könnte z.B. eine veränderte kininähnliche Aktivität zur erhöhten Kapillarpermeabilität als Voraussetzung für eine Retinopathie führen.

Bruun-Petersen und Mitarbeiter (1980) untersuchten Patienten mit familiärer essentieller Hypertonie und geben ein relatives Risiko von 6.9 für Personen mit dem seltenen Phänotyp C 4"g" an. Obwohl HLA-B 15 in starkem Kopplungsungleichgewicht mit C 4"g" steht, beträgt das relative Risiko für HLA-B 15-Träger nur 2.94 (19).
Die Autoren zogen daraus den Schluß, daß C 4 bzw. die C 4-Variante der primär für die Erkrankung verantwortliche Faktor ist. Zusätzlich wurde ein relatives Risiko von über 10 für C 3^F-Träger gefunden.
Bei den angeführten Studien von Bertrams, Lamm und Bruun-Petersen lagen uns leider keine Angaben über Stichprobenumfang bzw. absolute Zahlen vor, so daß der statistische Wert der oben angegebenen Daten für uns nicht überprüfbar war.

Beim Krankheitsbild der multiplen Sklerose geben Bertrams und Mitarbeiter zwei Haplotypen an, die überdurchschnittlich häufig bei Patienten mit dieser Krankheit auftreten. Bei den Trägern des Haplotyps

HLA-A 3-B 7-Dw 2/DR 2

konnten sie zusätzlich sehr niedrige C 2-Spiegel nachweisen, die nicht auf Komplementverbrauch zurückzuführen waren. So postulierten sie einen genetischen Defekt.
Da aber eine enge Kopplung zwischen HLA-Dw 2/DR 2 und einem hypothetischen Gen, das für die niedrigen C 2-Spiegel verantwortlich ist, nicht nachgewiesen werden konnte, trat die Theorie in den Vordergrund, daß mehrere Genorte für die Regulation der C 2-Synthese verantwortlich sind (12). Der zweite bei Patienten mit multipler Sklerose überdurchschnittlich häufig gefundene Haplotyp ist

HLA-A 1-B 8-Dw 3/DR 3,

für den eine Assoziation zu verschiedenen Autoimmunerkrankungen typisch ist.
HLA-B 8 steht in engem Kopplungsungleichgewicht zu C $4f^O$ (69).

Der Frage nach einer möglichen Beteiligung mutanter C 2-, C 4- und Bf-Gene an der Pathogenese primär HLA-D/DR assoziierter Erkrankungen sind vor allem Ch. Rittner und J. Bertrams nachgegangen.

Ihren Oberlegungen liegt das Konzept der Evolution eng gekoppelter, funktionell verwandter Genkomplexe, die durch Genduplikation entstanden sind, zugrunde. Dieses Modell wurde ursprünglich von Bridges 1919 (18) aufgestellt und von Bodmer und Parson 1962 in Hinsicht auf die Evolution des HLA-Genkomplexes weiter ausgebaut (14). Bodmer gelangte 1979 zu der Annahme, daß nur funktionell verwandte Gene das Phänomen des Kopplungsungleichgewichts zeigen, während andere in immunologischer Hinsicht unbedeutende Gene, wie GLO I (= Glyoxalase I) oder PGM 3 (= Phosphoglucomutase 3), die ebenfalls in die HLA-Region eingeschlossen sind, dies nicht tun (15). Lachmann und Hobart (1979) stützten die Hypothese, daß das Komplementsystem durch Genduplikation entstanden sei, da einerseits C 2 und Bf biochemische und funktionelle Ähnlichkeiten zeigen, andererseits C 2 und C 4 in der Komplementkaskade hintereinander geschaltet sind (49).

Für die multiple Sklerose und den juvenilen Diabetes mellitus gilt, daß dem Krankheitsausbruch häufig eine Virusinfektion vorausgeht. Man weiß auch, daß Viren mit Hülle für eine lytische Zerstörung durch Komplement anfällig sind, während hüllenlose Viren mit Antikörpern und den am Anfang der Komplementkaskade stehenden Faktoren C 1, C 2 und C 4 interagieren und so neutralisiert werden.
Aufgrund einiger Versuche, die zeigten, daß menschliches Serum ein Virus inaktivieren kann, wenn höchstens einer der beiden Faktoren C 4 oder Faktor B fehlt, gelangte man zu der Annahme, daß mutante C 4- oder Bf-Genprodukte weniger wirksam bezüglich der Neutralisation eines Virus sind, indem sie einen Einbau des Virus in ein Zielgewebe (wie es z.B. die Pan-

kreasinselzellen darstellen) ermöglichen.
Joseph und Mitarbeiter wiesen nach, daß bei Vorhandensein von Antikörpern, aber Fehlen von Komplement, eine Virusinfektion persistieren kann, wenn das Antigen nicht auf der Zelloberfläche exprimiert und damit von zytotoxischen T-Zellen auch nicht als Zielzelle erkannt werden kann (46).
Für die Antigene DR 3 und DR 4 nimmt man an, daß sie in einem Kopplungsungleichgewicht zu "mangelhaften" Immunantwortgenen stehen oder "mangelhafte" Genprodukte darstellen, was eine veränderte humorale und zelluläre Immunantwort nach sich zieht. Komplement und DR-Antigene wirken somit wahrscheinlich additiv. Demzufolge hätten Personen, die sowohl DR 3- als auch C $4f^{o}$-Träger sind, ein höheres relatives Risiko hinsichtlich einer Erkrankung an juvenilem Diabetes als Personen, die nur das DR 3-Antigen besitzen. Analoges gilt für DR 4 mit C 4"g" sowie für die Kombination von DR 3 und Bf F1 oder C $4Fs^{o}$.

Ungeklärt ist bis jetzt, ob die durch eine veränderte Immunantwort bedingte Zerstörung der Pankreasinselzellen durch direkte virale Zytolyse, durch Autoimmunreaktionen oder durch beide Mechanismen bewirkt wird.
Zusammenfassend kamen Ch. Rittner und J. Bertrams zu folgenden Ergebnissen:

1. Einige primär HLA-D/DR-assoziierte Erkrankungen wie IDDM, MS und IMN (= idiopathische membranöse Nephropathie) stehen in enger Beziehung zu seltenen C 2-, C 4- und Bf-Allelen.
2. Verschiedene Untersuchungsergebnisse sprechen dafür, daß zumindest einige dieser seltenen Varianten funktionell unvollkommen wirksam sind und so einen direkten Einfluß auf die Pathogenese dieser Erkrankungen ausüben.
3. Beruhend auf dem Modell funktionell zusammengehöriger Gengruppen sollen mutante Komplementgene zu herabgesetzten

Effktormechanismen bei der Virusneutralisation oder bei der Lyse virusinfizierter Zellen führen.

4. Änderungen bezüglich der kininähnlichen Aktivität varianter C 2- und C 4-Genprodukte mit nachfolgender Kapillarpermeabilitätserhöhung könnten eine Prädisposition für Erkrankungen, wie familiärer Hypertonus oder proliferative Retinopathie darstellen (75).

An dieser Stelle sei kurz auf das C 2-System eingegangen:

6 Allotypen der 2. Komplementkomponente wurden 1976 entdeckt (Hobart und Lachmann 76a, Alper 76, Meo und Mitarbeiter 76, 77) (75).
Das Serumprotein C 2 des Komplementsystems kann durch Isoelektrische Focusierung (= IEF) in ein Spektrum hämolytisch aktiver molekularer Formen zerlegt werden. Das jeweils auftretende lytische Muster ist species-spezifisch und scheint beim Menschen aus 6 Hauptbanden zu bestehen (61).
Die 3 häufigsten Allotypen sind: C 2^1/C 2^1 mit einer Frequenz von 93 - 94 %, C 2^1/C 2^2 mit einer Frequenz von 6 - 7 %. Der seltene homozygote Typ C 2^2/C 2^2 kommt in ca. 0,2 % vor (Daten nach Dewald und Rittner 1979) (75).
Diese Phänotypen werden von autosomal kodominanten Genen C 2^1 und C 2^2 kontrolliert. Bei C 2^o nimmt man an, daß es sich um ein variantes Allel desselben C 2-Genlocus handelt (61), da heterozygote C 2^o/C 2^1- bzw. C 2^o/C 2^2-Träger einerseits phänotypisch den homozygoten C 2^1- bzw. C 2^2-Trägern gleichen, andererseits ein verminderter Lysegrad bei der IEF gegenüber Homozygoten nachgewiesen werden konnte.

III. AUFGABENSTELLUNG

Die signifikante Frequenzerhöhung des HLA-B 8-Antigens bei Zöliakie-Patienten als eine der ersten Assoziationen zwischen HLA-System und Erkrankungen war bereits seit 1972 durch Falchuk und Mitarbeiter und durch Stokes und Mitarbeiter bekannt und in mehreren nachfolgenden Studien, die hinsichtlich des Patientenalters und deren ethnischen Ursprungs variierten, überprüft worden, als 1976 Keuning und Mitarbeiter eine noch engere Assoziation zu dem HLA-Dw 3-Antigen entdeckten. Keuning wertete diesen HLA-D-Genort als einen Marker, der näher an dem hypothetischen Krankheitsempfänglichkeitsgen liegt und deshalb ein höheres Kopplungsungleichgewicht zu diesem Gen besteht.
Thomsen und Mitarbeiter (1976) fanden bei der Untersuchung von Patienten mit Dermatitis herpetiformis neben einer DR 3-Erhöhung einen Anstieg von DR 7 bei denjenigen Patienten, die gleichzeitig an Zöliakie erkrankt waren. Ein Frequenzanstieg von DR 7 bei Zöliakiepatienten wurde von verschiedenen Forschergruppen bestätigt (2,22).

Ein erstes Anliegen der vorliegenden Untersuchung war es, die Ergebnisse dieser Studien vor allem hinsichtlich DR 3 und DR 7 zu überprüfen und eventuell eine weitere Assoziation zum DR-Genlocus zu finden.
Bereits aus früheren zuvor angeführten Studien war bekannt, daß bestimmte HLA-DR-Genprodukte keine absoluten Erfordernisse für die Ausbildung der Krankheit Zöliakie darstellen, da auch Patienten gefunden wurden, die weder HLA-DR 3- noch HLA-DR 7-Träger sind.
Diese Befunde legen die Vermutung nahe, daß beide Antigene doch nur indirekt aufgrund eines Kopplungsungleichgewichts mit einem oder mehreren Krankheitsempfänglichkeitsgenen, die

noch nicht näher bekannt sind, mit Zöliakie assoziiert sind.

Angeregt durch neueste Ergebnisse von J. Bertrams und Ch. Rittner, die einen Zusammenhang zwischen verschiedenen DR-assoziierten Krankheiten und seltenen C2-, C 4- und Bf-Allelen herstellen konnten (siehe II 4), stellten wir uns im Rahmen unserer Untersuchung als zweites die Aufgabe, sowohl eine C 2- als auch eine Bf-Typisierung (siehe Doktorarbeit von Gabriele Bonnländer) durchzuführen, um eventuell parallel zu den angeführten Studien ein gehäuftes Auftreten seltener funktionell defekter Allele dieser Komplementkomponenten festzustellen.

IV. MATERIAL UND METHODEN

1. Allgemeines

1.1 Patientenauswahl

70 an Zöliakie erkrankte Kinder aus Graz und Umgebung im Alter von 1 bis 19 Jahren, darunter 39 Mädchen und 31 Knaben, wurden zusammen mit ihren Müttern zur HLA-Typisierung einbestellt.
Für unsere Arbeit benötigten wir von Mutter und Kind sowohl heparinisiertes Blut zur HLA-Typisierung als auch Nativ-Blut zur Serumgewinnung, um die verschiedenen Varianten des Bf-Systems (siehe Arbeit von Gabriele Bonnländer) und des C 2-Systems zu bestimmen.

1.2 Datenmaterial

Um die Zusammenhänge zwischen dem HLA-System und der Erkrankung Zöliakie auch auf der Ebene der HLA-Haplotypen anhand einer größeren Patientengruppe zu untersuchen, wurden in die statistische Auswertung Typisierungsdaten miteinbezogen, die in früheren Jahren bestimmt worden waren. Es handelt sich dabei um 95 Patienten aus dem Münchner Raum, 47 Patienten aus Wien und 94 Patienten aus Graz.

1.3 Diagnosekriterien

Bei den von uns untersuchten Kindern war die Diagnose Zöliakie durch folgende Kriterien gesichert:

1.3.1 Anamnese und klinischer Befund

Von besonderer Bedeutung ist der genaue Zeitpunkt des Auftretens der abdominellen Ströungen. Die Zöliakie ist eine Enteropathie, die typischerweise nach Gliadinexposition vom 4. Lebensmonat an einsetzt und sich auch hierdurch von anderen differentialdiagnostisch in Frage kommenden Krankheiten abgrenzen läßt (z.B. Mukoviszidose, infektiös bedingte Enteritiden wie Lambliasis, Disaccharidasemangel, intestinale Nahrungsmittelallergien) (39).
Die klinischen Symptome der Zöliakie sind sehr vielfältig und müssen keineswegs alle gleichzeitig vorhanden sein. Sie können auch sehr geringe Ausprägung zeigen oder fehlen.
Das typische klinische Bild ist durch folgende Symtpome gekennzeichnet:

- häufige, massige, übelriechende und manchmal fettglänzende Stühle (Steatorrhoe),
- großes vorgewölbtes Abdomen infolge Ansammlung von Darminhalt und Muskelhypotonie,
- Fettsäuren, Kohlenhydrate, Vitamine und Spurenelemente werden vermindert resorbiert. Durch Bildung fettsaurer Salze kommt es zu Kalziumverlust. Die Folge sind Minderwuchs, mangelhaft ausgeprägtes Fettpolster, trockene, faltenreiche Haut. Ferner kann es zu Eiweißverlust in den Darm kommen (=exsudative Enteropathie). Der Appetit ist schlecht.
- Charakteristisch ist auch die verdrießliche Stimmung der Kinder, die häufig gereizt, depressiv und antriebsarm sind.

Sekundäre Zeichen können sein:

- Anämie, beruhend auf einem Eisen- oder Folsäuremangel,
- Disaccharidasemangel.

Anamnese und klinischer Befund führen so zur Verdachtsdiagnose Zöliakie, die auf jeden Fall bioptisch gesichert werden muß.

1.3.2 Saugbiopsie der Dünndarmschleimhaut

Zum ersten Mal wurde 1958 von Shiner und Doniach Dünndarmschleimhaut mit Hilfe der Saugbiopsiemethode gewonnen und anschließend lupenmikroskopisch und histologisch untersucht (88). Heute stellt sie das wichtigste Diagnosekriterium für die Zöliakie dar. Bei den von uns untersuchten Kindern wurde die Saugbiopsie mit der sogenannten "pädiatrischen Watsonkapsel" vor Ansetzen einer gliadinfreien Diät durchgeführt (Shmerling 1970 (89), Harms 1973 (36)). Hierbei wird unter Röntgenkontrolle eine Sonde bis zur Flexura duodenojejunalis eingeführt und die Biopsie an einer definierten Stelle (= in der Gegend des Treitz-Ligaments) durchgeführt. Nach Fixierung mit 4 %igem Formol wird die Probe im Auflichtstereomikroskop beurteilt. Es handelte sich ausschließlich um eine subtotale Zottenatrophie, die für Zöliakie beweisend ist und sich durch eine völlig flache Schleimhaut auszeichnet. Zotten fehlen. Nur die erweiterten Krypten sind als punktförmige Öffnungen, umgeben von niedrigen Wülsten, zu erkennen.
Nach etwa einem Jahr einer streng gliadinfreien Diät wird die Biopsie zur Sicherung des Therapieerfolgs wiederholt.

1.3.3 Chemische Untersuchungen

Der Vollständigkeit halber seien noch folgende Tests zur Erfassung einer Malabsorption erwähnt, die bei Verdacht auf Zöliakie aufschlußreich sein können und Anwendung finden.

- Ermittlung des Gliadinantikörpertiters, der bei 60 % der unbehandelten Zöliakiepatienten erhöht ist.

- Venöser 1-Stunden-Xylose-Test:
  Nach einer oralen Verabreichung von 5 g D-Xylose in einer 5 %igen Lösung wird nach einer Stunde eine Blutbestimmung gemacht. Blutwerte unter 20 mg% gelten als pathologisch. Es besteht eine gute Korrelation zwischen den Blutglucosewerten und der intraepithelialen Lymphozyteninfiltration, die bei florider Zöliakie typischerweise erhöht ist (83).
- Da der größte Teil der Zöliakie-Patienten eine leichte Anämie aufweist, können Hb, MCV (= Erytrozytenvolumen) und Serumeisen pathologisch verändert sein. Dasselbe gilt für das Gesamteiweiß.
- Röntgenologische Untersuchungen zeigen häufig eine Osteoporose (durch Kalziumverlust) mit pathologischem Kortikalisindex. Bei 64 % der unbehandelten Zöliakie-Patienten sind die Kortikalisdicken verringert.

2. HLA-Typisierung

2.1 T-Zell-Präparation

20 ml heparinisiertes Venenblut (0,1 ml Heparin auf 10 ml Blut) werden mit physiologischer NaCl-Lösung im Verhältnis 1 : 2 verdünnt. Anschließend werden jeweils 3 ml Ficoll-Isopaque-Lösung (Dichte 1,077) mit ungefähr 5 - 6 ml Blut vorsichtig überschichtet und 10 Minuten bei 2500 Umdrehungen pro Minute (≙ 1000 g) zentrifugiert. Es bildet sich dabei ein Lymphozytenring aus, der mit einer Pasteur-Pipette abgenommen und in ein graduiertes Spitzröhrchen gegeben wird. Dann werden die Lymphozyten zweimal mit Hank'scher Lösung 10 Minuten bei 1500 Umdrehungen pro Minute (≙ 400 g) gewaschen, anschließend unter dem Mikroskop gezählt und auf 2×10^6/ml (= 2000 µl) eingestellt. Nach Resuspension in 1/3

RPMI-Gewebekulturmedium + 2/3 Mc Coy's-Lösung kann die Suspension zur Tpyisierung benützt werden.
Die Testung erfolgt in einem Zweistufen-Mikrolymphozytotoxizitätstest nach Terasaki und McClelland (NIH-Technik, 1964) (97). Man verwendet Mikrotestplatten mit 60 Vertiefungen, in denen die Reaktion von jeweils 1 µl Antiserum mit 1 µl Lymphozytensuspension stattfindet. Zum Schutz vor Verdunstung findet die Reaktion unter 5 µl Paraffinöl statt. Nach einer Inkubationszeit von 60 Minuten werden die Terasaki-Platten mit 5 µl wässriger Eosinlösung pro Reaktionsgefäß gefärbt und mit je 5 µl Formalin fixiert.
Die Antigen-Antikörper-Reaktion bewirkt in Gegenwart von Komplement eine Zytolyse der Zellen, die sich dann mit Eosin anfärben lassen. Nicht lysierte Zellen halten den Farbstoff fern und erscheinen hell aufleuchtend und kleiner im Mikroskop (= negative Reaktion). Im Auflicht-Phasenkontrastmikroskop kann man nun den Anteil der lysierten, aufgequollenen und dunkel gefärbten Zellen bestimmen.
Zur Beurteilung wird bei jeder Testserie ein positives und ein negatives Kontrollserum mitgeführt. Oblicherweise sind 80 - 100 % der Testzellen in der Positiv-Kontrolle und maximal 10 % in der Negativ-Kontrolle lysiert. Wenn mindestens 40 % der Zellen angefärbt sind, gilt eine Reaktion als positiv.
Die zur Testung nötigen Antiseren stammen von schwangeren primi- und multiparen Frauen, bei denen während der Schwangerschaft kindliche Lymphozyten in den mütterlichen Kreislauf gelangen und daraufhin Antikörper gegen kindliche Lymphozytenantigene gebildet werden. Ca. 15 - 20 % aller Graviden entwickeln solche cytotoxischen HLA-Antikörper. Wegen häufig auftretender Begleitantikörper oder ungenügender Reaktionsstärke sind aber nur Seren von etwa 0,4 % der Spenderinnen für die HLA-Bestimmung geeignet.

2.2 B-Zell-Präparation

Der erste Schritt der B-Zell-Präparation entspricht den Vorbereitungen zur T-Zell-Präparation.
Eine für die Testung nötige B-Zell-angereichterte Lymphozytensuspension kann man auf zwei verschiedene Arten gewinnen:

Zum einen nach der von van Rood entwickelten Methode (79), die auf der Tatsache beruht, daß T-Lymphozyten mit Schafserythrozyten Rosetten bilden, die mittels eines Ficollgradienten abgetrennt werden können.

Die zweite von uns benützte Methode geht davon aus, daß B-Zellen eine gewisse Adhärenzneigung zeigen. Man läßt eine Lymphozytensuspension durch Strohhalme laufen, die innen eine Säule mit Nylonwolle enthalten. Nach einer kurzen Inkubationszeit werden die nicht adhärenten T-Lymphozyten ausgewaschen und anschließend die B-Zellen durch leichten mechanischen Druck bzw. Ausquetschen der Nylonsäule gewonnen (105). Nun können die B-Zell-Suspensionen im Lymphozytotoxizitätstest nach Terasaki und McClelland in Mikrotestplatten untersucht werden. Im Gegensatz zu der unter 2.1 beschriebenen Methode ist hierbei die Inkubationszeit länger (1 Stunde Serum und Zellen bei 37°C und 2 Stunden mit Komplement bei Raumtemperatur).
Die B-Zell-spezifischen Antikörper werden zusammen mit den Antikörpern gegen HLA-A,B,C-Antigene aus Schwangerenseren gewonnen, wobei letztere durch Absorption mit Thrombozyten aus dem Gemisch entfernt werden können (79).

3. C 2-Typisierung

3.1 Isoelektrische Focussierung

Die Methode der Elektrofocussierung stellt ein Trennverfahren für Proteine aufgrund ihres isoelektrischen Punktes dar. Zur C 2-Typisierung wird die IEF (= Isoelektrische Focussierung) in einem Polyacrylamidgel durchgeführt.

3.1.1 Herstellen eines Polyacrylamid-Gels im Vakuum-Kolben

Zunächst stellt man eine Lösung her aus:

0,250 ml Temed 5 % (Katalysator für die Polymerisation),
7,00 ml Acrylamid/Bisacrylamid,
Ampholyten:
a) 0,75 ml pH 4-6
b) 1,50 ml pH 5-7
c) 0,25 ml pH 6-8,
11,0 ml H_2O und 23,15 ml Tautin 0,54 N.

Anschließend wird mit Hilfe einer Wasserstrahlpunpe O_2 entzogen. Eine Glasplatte (Ilford Plate 21,5 cm x 16,3 cm) wird auf einen eingestellten Nivelliertisch gelegt. Dieser steht in einer Kammer, die einen Zufluß und ein Rückschlagventil hat. Nun fügt man der Lösung 5 ml Riboflavin (Radikalbildner) bei und pipettiert ca. 44 ml der Lösung möglichst luftblasenfrei auf die Platte. Die Kammer wird verschlossen und durch den Zufluß mit N_2 durchströmt (O_2 Ausschluß). Das Rückschlagventil verhindert das Ausströmen von N_2 und das Einströmen von O_2. Eine Neonlampe dient als Lichtquelle (Riboflavinaktivator).
Acrylamid und Bisacrylamid werden unter O_2-Ausschluß mittels Licht in einer Radikalkettenreaktion polymerisiert (O_2 ist Radikalfänger). Es entsteht ein Gitter, dessen Porengröße

vom Verhältnis Acrylamid/Bisacrylamid abhängig ist. Acrylamid bildet Fibrillen, die durch Bisacrylamid quervernetzt werden. Das Verhältnis wird nach der Größe der zu trennenden Proteine gewählt. Das Trennungskriterium soll ausschließlich der IEP (= Isoelektrischer Punkt) sein.
Ampholyte sind niedermolekulare Polyaminopolycarbonsäuren, die wie die zu trennenden Proteine im elektrischen Feld wandern und an der Stelle bleiben, die ihrem IEP entspricht. Die Ampholyte wandern aufgrund ihrer geringen Molekülgröße schneller als die zu trennenden Proteine und bauen einen pH-Gradienten auf, der eine gute Auflösung der Proteintrennung bewirkt.

3.1.2 Probenauftragung

Filterplättchen (0,6 mm x 10 mm) werden mit je 15 µl Serum getränkt und auf der Anodenseite aufgebracht. An der Anode bzw. Kathode ist ein sehr niedriger bzw. sehr hoher pH-Wert erforderlich. Hierfür tränkt man dünne Filterpapierstreifen mit Elektrolytlösungen niederen bzw. hohen pH-Wertes (Kathodenlösung: 5 % Äthanolamin, Anodenlösung: 5 % H_3PO_4), die die Kontaktstellen zur Annode bzw. Kathode bilden.

3.1.3 Laufbedingungen

Die Dünnschichtgelplatte wird am Abend auf die Karbonelektroden gelegt und die Kammer geschlossen. Die Spannung wird bei 70 V konstant gehalten, was einer Stromstärke von etwa 3 mA entspricht. Am nächsten Morgen steigert man die Stromstärke auf 5 mA, ohne allerdings 500 V zu überschreiten. Die Laufzeit beträgt 22 - 24 Stunden. Nach Beendigung des Laufs wird der pH-Wert mit der Oberflächenelektrode ermittelt und die Platte 2 x 6 Minuten in kaltem PBS-Puffer gewaschen.

3.2 Lytische Darstellung

Ca. 3 ml Schafserythrozyten (SRBC) werden mindestens 3 mal in kaltem Oxoid-Puffer gewaschen, der Rückstand in 5 ml Oxoid aufgenommen. Die benötigte Zellzahl von $3x10^9$ wird durch Lyse der Zellen (0,200 ml SRBC + 4,8 H_2O) und anschließende Extinktionsmessung des freiwerdenden Hämoglobins im Photometer eingestellt.
Berechnungsbeispiel:
Extinktion = 0,408 (Eichwert = 0,420 = 10^9 Zellen)
0,420 = 1
0,408 = x x = $0,97x10^9$ Zellen.
Man benötigt $3x10^9$ Zellen: 3 : 0,97 = 3,1 ml Suspension.

In 3 ml Oxoid gibt man 10 µl IgG, fügt diese Lösung tropfenweise der vorbereiteten Suspension bei und läßt sie 20 Minuten auf dem Vortex drehen. Es muß eine leichte Agglutination zu sehen sein, die nach 4 - 5 maligem Waschen in kaltem Oxoid wieder verschwindet. Der Rückstand wird in 5,5 ml Oxoid aufgenommen und 450 µl C_2D (= C 2-defizientes Serum) zugefügt. Dann werden 6 ml 1 %ige Agaroselösung hergestellt und im Wasserbad auf 50°C erwärmt. Die Ilford-Platte und das SRBC/C_2D-Gemisch werden auf 40°C erwärmt, dann in die Agarose geschüttet und vorsichtig auf die Platte gegossen. Nach dem Festwerden wird die Platte in den Brutschrank in eine feuchte Kammer gestellt bis zum Sichtbarwerden der lytischen Banden.

Das Prinzip ist folgendes: Die C_2-Proteine, die im Gel bis zu dem Punkt gewandert sind, der ihrem IEP entspricht, diffundieren genau an dieser Stelle aus dem Polyacrylamidgel in die Agarose-SRBC-C_2D-Schicht. Damit wird der Komplex Schafserythrozyten + Antikörper gegen SRBC + Komplement gebildet und an diesen Stellen werden Lysebanden sichtbar.

4. Statistische Methoden

4.1 Chi²-Wert

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Vergleich der Häufigkeiten bestimmter HLA-Antigene zwischen Kontrollpopulation und Patienten angestellt. Die Signifikanz der jeweiligen Ergebnisse wurde mit Hilfe des Chi²-Testes ermittelt. Hierfür erstellt man eine Vierfeldertafel:
z.B.

	Kontroll-population	Patienten	Summe
Mit HLA-A 1	A	B	A + B
Ohne HLA-A 1	C	D	C + D
Summe	A + C	B + D	N = A + B + C + D

Die Formel für den Chi²-Test lautet dann:

$$Chi^2 = \frac{(AD - BC)^2 \times N}{(A + C) \times (B + D) \times (A + B) \times (C + D)}$$

Bei kleinen Werten von N bzw. falls A, B, C oder D < 10 sind, führt man die Yate'sche Korrektur ein, um eine bessere Anpassung an die Chi²-Verteilung zu erreichen. Bei dieser wird der Absolutbetrag von AD - BC um N/2 verringert.
Die Formel lautet dann:

$$Chi^2 = \frac{(|AD - BC| - N/2)^2 \times N}{(A + C) \times (B + D) \times (A + B) \times (C + D)}$$

Vergleicht man nicht zwei Populationen, sondern das tatsächliche Auftreten eines bestimmten HLA-Antigens mit dem erwarteten, so lautet die Formel:

$$Chi^2 = \frac{(\text{erwarteter Wert} - \text{beobachteter Wert})^2}{\text{erwarteter Wert}}$$

4.2 p-Wert

Bei Kenntnis der Freiheitsgrade kann man mittels des errechneten Chi^2-Wertes den dazugehörigen p-Wert (probability = Irrtumswahrscheinlichkeit) in Tabellen nachschlagen *.

Die Zahl der Freiheitsgrade beträgt für die Vierfeldertafel 1.

(Spaltenzahl - 1) x (Zeilenzahl - 1) = 1.

Der p-Wert gibt die Wahrscheinlichkeit an, mit der ein bestimmter Wert rein zufällig erreicht werden könnte. Um bei einer großen Zahl von Einzelvergleichen einer Überschätzung der statistischen Signifikanz vorzubeugen, führt man die sogenannte p-Wert-Korrektur ein, wobei der ermittelte p-Wert mit der Anzahl der getesteten Parameter (HLA-Antigene bzw. Haplotypen) multipliziert wird (97).

4.3 Relatives Risiko

Das relative Risiko (RR) ist ein Maß für den Grad der Assoziation zwischen einem bestimmten Antigen und einer Krankheit. Es wurde 1955 von Woolf bestimmt (107) und gibt an, wieviel mal häufiger eine bestimmte Krankheit bei Antigenträgern auftritt verglichen mit Personen, die keine Antigenträger sind. Die mathematische Formel lautet:

$$RR = \frac{\text{Anzahl der Patienten mit Antigen x Anzahl einer Kontrolle ohne Antigen}}{\text{Anzahl der Pat. ohne Antigen x Anzahl einer Kontrolle mit Antigen}}$$

Weiterhin wird der Wert für das relative Risiko auch angewandt, um den Grad der Assoziation verschiedener HLA-Antigene mit einer bestimmten Krankheit abzuschätzen. Z.B. steigt das relative Risiko für Zöliakie von HLA-A 1 über HLA-B 8 zu HLA-DR 3 an.

---

* Geigy, Wissenschaftliche Tabellen, 7. Auflage 1973.

4.4 Berechnung der Haplotypfrequenzen nach Wahrscheinlichkeitskriterien

Bei den Kindern, bei denen mit Hilfe der mütterlichen Phänotypen keine eindeutige Festlegung der Haplotypen erfolgen konnte, wurden die bei der gegebenen Phänotypkonstellation wahrscheinlichsten Genotypen berechnet und bei der Haplotypzählung als Fraktion von 1.0 gezählt.
In einem Beispiel sei der Phänotyp der Mutter HLA-A 1,A 2, Bw 35 und der des Kindes A 1,A 2,B 8,Bw 35.
Die sichere Ableitung der Genotypen ist nicht möglich. Das Kind kann bei den gegebenen Phänotypen folgende Genotypen haben:

1) A 1, B 8 / A 2, Bw 35 oder
2) A 1, Bw 35 / A 2, B 8

Die relative Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen des ersten gegenüber dem zweiten Genotyp errechnet sich aus:

$$W\,I = \frac{2hf\ A\ 1,B\ 8 \times hf\ A\ 2,Bw\ 35}{2hf\ A\ 1,B\ 8 \times hf\ A\ 2,Bw\ 35 + 2hf\ A\ 1,Bw\ 35 \times hf\ A\ 2,B\ 8}$$

$$W\,I = \frac{0,0576 \times 0,0129}{(0,0576 \times 0,0129 + 0,0088 \times 0,0073)}$$

$$W\,I = 0,92$$

Dementsprechend ist dann W II = 0,08. Bei der Haplotypzählung werden dann je 0,92 Haplotypen A 1, B 8 und A 2, Bw 35 gezählt und für die Haplotypen A 1, Bw 35 sowie A 2, B 8 je 0,08. Damit gehen die zwei Haplotypen des Kindes nach dem Verhältnis der Wahrscheinlichkeiten in die Zählung ein.

(2 x 0,92 + 2 x 0,08 = 2)

In gleicher Weise wurde auch bei den HLA-A,B,DR-Haplotypen verfahren. Die in den Formeln einzusetzenden Haplotypfrequenzen in der europiden Bevölkerung wurden den entsprechenden Tabellen von Baur und Danilovs (1980) entnommen*.

---

* Joint report; Reference Tables of Two And Three-Locus-Haplotype Frequencies For HLA-A, B, C, DR, Bf And GLA, Baur, M.P. and Danilovs, J.A., PP 996, in: P. Terasaki: Histocompatibility Testing 1980; Report Of The Eighth International Histocompatibility Workshop Held In Los Angeles, California, USA (1980).

V. RESULTATE

1. Phänotypfrequenzen

1.1 HLA-A-Genlocus

In Tabelle I sind die Phänotypfrequenzen von 306 Patienten aus dem süddeutschen und österreichischen Raum zusammengestellt und mit einer gleichgroßen Anzahl von Personen einer Kontrollpopulation verglichen.
Im Falle einer größeren Abweichung zwischen beiden Gruppen wurde der Chi^2-Test angewandt, um eine Signifikanz der Verschiebung nachzuweisen. Im Falle des HLA-A-Locus war lediglich eine signifikante HLA-A 1-Erhöhung festzustellen.

Patienten 51,0 % gegenüber 27,5 % bei der Kontrollpopulation; $Chi^2 = 35{,}5$; $p_{korrigiert}\ (= p_{corr}) < 10^{-7}$.

Wie aus früheren Studien bekannt war, ist diese HLA-A 1-Frequenzerhöhung jedoch nur sekundär und auf ein stark ausgebildetes Kopplungsungleichgewicht mit HLA-B 8 zurückzuführen.

Unser Ergebnis stimmt mit den publizierten Daten anderer Autoren teilweise recht gut überein. Ek, Solheim und Mitarbeiter z.B. kamen bei 59 norwegischen von ihnen untersuchten Zöliakie-Patienten zu folgendem Ergebnis bezüglich des HLA-A 1-Antigens:

Patienten 54 % gegenüber 29,4 % bei der Kontrollpopulation; $Chi^2 = 16{,}3$; RR = 2,9 (26).

Robinson, Roberts und Mitarbeiter (University of Newcastle upon Tyne, England) fanden bei 21 zöliakiekranken Kindern

höhere Frequenzen:

HLA-A 1: 66,7 %; $Chi^2 = 9,5$; $p = 0,0017$ (78).

Ein ähnliches Ergebnis liegt von J. Henker und B. Gebhardt aus Dresden vor, die 32 Kinder untersuchten.

HLA-A 1: 71,9 % bei den Patienten gegenüber 33 % bei einer Kontrollgruppe; $p = 0,001$ (42).

Diese Unterschiede beruhen zum einen sicherlich auf der z.T. sehr kleinen Patientenzahl, die untersucht wurde, zum anderen ist bekannt, daß der Grad des Kopplungsungleichgewichts zwischen verschiedenen Bevölkerungsgruppen variiert.

1.2 HLA-B-Genlocus

In Hinsicht auf den HLA-B-Genlocus (Tabelle II) konnten die Ergebnisse früherer Studien bestätigt werden. Für HLA-B 8 und HLA-B 13 fanden wir eine signifikante Erhöhung bei den Patienten:

HLA-B 8 bei 105/306 Patienten bzw. 49,0 % gegenüber 15,7 % einer Kontrollgruppe; $Chi^2 = 77,7$; $p_{corr} < 10^{-8}$.

HLA-B 13 bei 49/306 Patienten bzw. 16,0 % gegenüber 5,6 % einer Kontrollgruppe; $Chi^2 = 17,4$; $p_{corr} = 0,000093$.

Unsere Ergebnisse stimmen recht gut mit früheren Daten aus dem süddeutschen und österreichischen Raum überein.

In England (88 %), Holland (82 %) und Norwegen (67 %) dagegen liegt der Prozentsatz HLA-B 8-positiver Zöliakiepatienten höher, für Frankreich werden Werte von 63 % (Lyon) bzw. 45 % (Paris) angegeben (nach Angaben von Strober 77, Mackintosh & Asquith 78).
Der niedrigste Grad einer Assoziation mit HLA-B 8 liegt nach

Angaben von Gazit und Mitarbeitern (1977) in Israel mit 27 % vor (13).

Ursache dieser Differenzen bezüglich des Assoziationsgrades ist einmal das unterschiedlich stark ausgeprägte evolutionsbedingte Kopplungsungleichgewicht in den verschiedenen Populationen.
Zum anderen muß beim Vergleich von Studien aus verschiedenen Ländern auch die Antigenfrequenz innerhalb der Kontrollgruppe mitberücksichtigt werden, da diese zum Teil beträchtlich variiert.
In Westirland zum Beispiel erreicht die HLA-B 8-Antigenfrequenz 46,6 % (Stevans und Mitarbeiter 1978) in der gesunden Bevölkerung im Vergleich zu ca. 16 % in Deutschland. Dementsprechend ist auch die HLA-B 8-Frequenz bei Zöliakiepatienten und die Prävalenz für Zöliakie in England sehr hoch (58).

Wenn im Zusammenhang mit einer Erkrankung ein signifikanter Frequenzanstieg eines oder mehrerer Antigene (in unserem Fall HLA-B 8 und HLA-B 13) registriert wird, so gilt es zu überprüfen, ob eine entsprechende kompensatorische Frequenzverminderung gleichmäßig über die anderen Antigene desselben Genlocus verteilt ist.

In unserer Untersuchung konnte eine sigifikante Erniedrigung von HLA-B 7 festgestellt werden:

Patienten: 8,2 % gegenüber 16,8 % einer Kontrollgruppe;
$Chi^2 = 6,2$; $p = 0,015$.

Diese Verminderung von HLA-B 7 war bereits mehrfach in verschiedenen Studien innerhalb verschiedener Bevölkerungsgruppen erwähnt worden (van Rood 1975, Albert 1973,1978, Mackintosh & Asquith 1978) (13), erreichte jedoch meist nur knapp die Grenze statistischer Signifikanz.

Die Schwierigkeit, eine signifikante Erniedrigung einer bestimmten Antigenfrequenz nachzuweisen, beruht nach Angaben von Svejgaard und Mitarbeitern (1975) zum Teil auf den angewandten statistischen Methoden, wobei die p-Werte mit der Anzahl der untersuchten Antigene multipliziert werden (58).

Bei der Beurteilung einer Verringerung muß ferner in Betracht gezogen werden, daß ja bei einer signifikanten Frequenzerhöhung eines Allels (wie hier von HLA-B 8) zwangsläufig andere Allele verringert sein müssen, weil die Summe aller Genfrequenzen eines Genortes immer 1.0 beträgt. Es gilt also zu untersuchen, ob eine Verringerung eines Allels über das Maß dieser erwarteten kompensatorischen Verringerung hinausgeht. Dies gelang in unserer Untersuchung für die HLA-B 7-Verringerung, die über das Maß einer kompensatorischen Verminderung bei gleichzeitiger Erhöhung anderer Antigene (HLA-B 8, HLA-B 13) hinausgeht: Tabelle III.

In der Patientengruppe tritt eine Genfrequenzverschiebung von 0.2388 gegenüber der Kontrollpopulation auf, die auf der Erhöhung von HLA-B 8 und HLA-B 13 beruht. Demzufolge müßte man -- bei Annahme einer lediglich kompensatorischen Verminderung von HLA-B 7 -- eine HLA-B 7-Genfrequenz erwarten, die um 0.2388 gegenüber der Kontrollpopulation erniedrigt ist. Dies würde einer Genfrequenz von 0.067 bzw. einer absoluten Zahl von 41 HLA-B 7-positiven Patienten entsprechen.
Die Abweichung des erwarteten (= 41 Patienten) vom beobachteten (= 25 Patienten) Wert ist signifikant ($Chi^2 = 6.2$; $p = 0.015$) und beweist eine überkompensatorische Verminderung von HLA-B 7.

1.3 HLA-DR-Genlocus

In Tabelle IV sind die HLA-DR-Phänotypfrequenzen von 120 Grazer Patienten zusammengestellt und mit 120 Kontrollpersonen verglichen.

Das mit HLA-B 8 in einem Kopplungsungleichgewicht stehende HLA-DR 3-Antigen wurde bei 70 von 120 Patienten gefunden, was einer Frequenz von 58.3 % im Vergleich zu 20.4 % bei einer Kontrollgruppe entspricht ($Chi^2 = 37.0$; $p_{corr} < 10^{-8}$).

Das in der gesunden Bevölkerung nur schwach, bei Zöliakiepatienten jedoch in stärkerem Ausmaß mit HLA-B 13 assoziierte HLA-DR 7 Antigen trat in 51 von 120 Patienten (42.5 %) auf im Vergleich zu 23.4 % bei der Kontrollgruppe ($Chi^2 = 9.98$; $p_{corr} < 0.013$).

Die Erhöhung von HLA-DR 5 mit 26.6 % gegenüber 19.5 % einer Kontrollgruppe erreichte nicht die Grenze statistischer Signifikanz.
Wie aus diesen Ergebnissen deutlich wird, ist die DR 3-Frequenzerhöhung stärker als die Erhöhung von DR 7 bei annähernd gleichen Frequenzen innerhalb der Kontrollgruppen.

In Frankreich scheint die Erhöhung von DR 7 stärker ausgeprägt zu sein, wie die Ergebnisse von Betuel an 33 erwachsenen Zöliakiepatienten zeigen:

DR 3 63.7 % bei den Patienten gegenüber 21 % einer Kontrollgruppe
($Chi^2 = 15.4$; $p_{corr} = 0.0009$)

DR 7 54.5 % bei den Patienten gegenüber 20 % einer Kontrollgruppe
($Chi^2 = 9.4$; $p_{corr} = 0.04$) (13).

Bei einer von Ch. Brautbar getesteten israelischen Gruppe (43 Patienten) konnte lediglich für HLA-DR 3 eine signifikante Erhöhung nachgewiesen werden, nicht jedoch für DR 7, was eher für eine schwache Assoziation zu DR 7 spricht:

DR 3 39 % bei den Patienten im Vergleich zu 14 % einer Kon-

trollgruppe
(Chi^2 = 9.09; p_{corr} = 0.014)

DR 7 44 % bei den Patienten im Vergleich zu 24 % bei einer Kontrollgruppe
(Chi^2 = 4.43; nicht signifikant) (84).

In Irland ist DR 7 bei Zöliakiepatienten nicht erhöht, die Assoziation zu DR 3 ist allerdings sehr hoch.

DeMarchi, Borelli und Mitarbeiter (Turin) kamen bei einer neueren Untersuchung von 101 italienischen Patienten zu folgendem Ergebnis:

DR 3 69 % (Patienten) : 16 % (Kontrolle); RR: 11.7;
p: 10^{-9}

DR 7 59 % (Patienten) : 27.6 % (Kontrolle); RR: 3.7;
p: 2.2×10^{-6}.

Auch hier ist die Assoziation zu DR 7 schwächer.
Insgesamt gesehen weisen die Häufigkeitsangaben von Patienten, die DR 3 und/oder DR 7 besitzen, eine relativ geringe Streubreite auf.

In unserer Studie konnte bei 105 der 120 Patienten mindestens eines der beiden Antigene gefunden werden, was 87.5 % entspricht.
Bei diesen 120 Grazer Patienten machen DR 3 und DR 7 zusammengenommen 50.4 % der Genfrequenz des DR-Genlocus aus. Analog zu den Antigenen des HLA-B-Genortes versuchten wir anschließend eine eventuelle überkompensatorische Verminderung der Antigene HLA-DR 1,2,4,X nachzuweisen. Wie aus Tabelle V a) hervorgeht, wurden dazu die bei den Patienten beobachteten Genfrequenzen der genannten DR-Antigene denen einer Kontrollpopulation gegenübergestellt. Unter Berücksichtigung der durch DR 3 und DR 7 bedingten Frequenzverschiebung

von 0.3106 wurde ein Faktor ermittelt (f = 0.595), um den die übrigen Genfrequenzen -- bei angenommener gleichmäßiger kompensatorischer Verringerung -- vermindert wurden (≙ erwartete Genfrequenzen).
Beim Vergleich beobachteter und erwarteter Genfrequenzen mittels des Chi²-Tests konnte die zugrundegelegte Null-Hypothese widerlegt werden.
Null-Hypothese: die kompensatorische Verringerung ist gleichmäßig über alle nicht DR 3- oder DR 7-Allele verteilt.
Für DR 2 ergab sich eine statistisch signifikante Verringerung ($Chi^2 = 4.8$; $p = 0.03$).
Die Chi²-Werte für DR 1 und DR 4 erreichten nicht die Signifikanzgrenze.
Im Falle von DR 5 konnte festgestellt werden, daß dieses Antigen signifikant weniger verringert ist als erwartet, was einer leichten, jedoch nicht signifikanten, Erhöhung gleichkommt: Tabelle V b).
DR X stellt einen "Pool" von nicht getesteten oder bisher noch unbekannten DR-Allelen dar, so daß für den in unserem Test signifikanten Chi²-Wert von 5.29 keine Beurteilung möglich ist.

2. C 2-Phänotypen und C 2-Genfrequenzen

Tabelle VI gibt die C 2-Phänotypen und die C 2-Genfrequenzen von 65 C 2-typisierten Grazer Patienten im Vergleich zu den Werten einer Kontrollpopulation wieder.
Die Genfrequenzen für die ermittelten Allele $C\ 2^1$, $C\ 2^2$ und $C\ 2^3$ zeigten keinerlei nennenswerte Abweichung von denen der Kontrollgruppe. Ein Vergleich der beobachteten Phänotypen mit den aus den Genfrequenzen bei Zugrundelegen einer Hardy-Weinberg-Verteilung errechneten Erwartungswerten zeigte nahezu vollständige Obereinstimmung. Dies besagt einmal, daß

das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht nicht gestört ist, zum anderen, daß bei der Typisierung kein systematisch technischer Fehler vorlag.
Ein gehäuftes Auftreten seltener Varianten wie C 2^2/C 2^2 oder C 2^o/C 2^o konnte nicht nachgewiesen werden.
Zu erwähnen ist allerdings, daß bei 5 Patienten trotz mehrfacher Wiederholung keine lytischen Banden auftraten und so eine Typisierung nicht möglich war. Die Annahme, es könne sich bei diesen 5 Patienten eventuell um Träger des seltenen C 2-defizienten Allels C 2^o handeln, muß allerdings stark bezweifelt werden, da keiner dieser Patienten den mit C 2^o nahezu ausschließlich vorkommenden seltenen Haplotyp

HLA-A 25 -C ? -B 18 -Dw 2 -Bf S

aufwies (75,108).

3. Haplotypfrequenzen

3.1 HLA-A-B-Haplotypen

Da die HLA-Gene auf dem Chromosom Nr. 6 sehr eng beieinander liegen, werden sie normalerweise gemeinsam in Form einer Kopplungseinheit, die der Haplotyp darstellt, vererbt. Durch genetische Rekombination werden die Allele eines Haplotyps HLA-A-B-DR in weniger als 1,6 % getrennt (71).

Bei unserer Untersuchung wurden die Haplotypen aus den Phänotypen unter Zuhilfenahme des mütterlichen Phänotyps bestimmt (siehe IV. 4.4).
Tabelle VII gibt die ausgezählten Haplotypen HLA-A-B der 306 Zöliakiepatienten als Zahl pro 10 000 wieder. In der Vertikalen wurden die Werte des HLA-A-Genlocus eingetragen, in der Horizontalen die Werte des HLA-B-Genlocus. Die Blank-

spalte (X) enthält die bislang noch nicht identifizierten Antigene. Konnten bei der Typisierung z.B. nur drei Antigene ermittelt werden, so kann es sich bei dem vierten Antigen entweder um ein unbekanntes, bisher noch nicht identifiziertes Antigen handeln, oder es liegt Homozygotie vor. Beide Möglichkeiten sind ihren Wahrscheinlichkeiten entsprechend in dieser Tabelle berücksichtigt. Die Randsummen entsprechen den Genfrequenzen der jeweiligen Allele.
In ihrer Frequenz auffällige Haplotypen wurden anschließend mit den Werten einer Kontrollgruppe verglichen und auf ihre Signifikanz mit dem Chi^2-Test geprüft:

Signifikant gehäuft treten die Haplotpyen

HLA-A 1-B 8 mit 0.2021 gegenüber 0.0576 bei der Kontrollgruppe ($Chi^2 = 56.5$; $p < 10^{-10}$) und

HLA-A 2-B 8 mit 0.0337 im Vergleich zu 0.0073 bei der Kontrolle ($Chi^2 = 9.3$; $p \cong 0.002$) auf.

Ludwig und Mitarbeiter (1974) fanden bei 46 % der 47 an Zöliakie erkrankten Kinder den Haplotyp

HLA-A 1-B 8

im Vergleich zu 6.7 % in der gesunden Bevölkerung (13).

Außerdem konnten wir eine Erhöhung des Haplotyps A 2-B 13 mit 0,0267 gegenüber 0,0067 feststellen ($Chi^2 = 6,3$; $p = 0,015$). Eine Erhöhung anderer Kopplungsgruppen mit HLA-B 13 konnten wir im Gegensatz zu früheren Studien nicht nachweisen.

3.2 HLA-A-B-DR-Haplotypen

Anhand von 120 Grazer Patienten, bei denen auch eine DR-Typisierung durchgeführt wurde, versuchten wir Dreipunktassoziationen festzustellen (Tabelle VIII und VIII a)).

Signifikant erhöht gegenüber einer Kontrollgruppe traten folgende HLA-A-B-DR-Haplotypen auf:

HLA-A 1-B 8- DR 3 (0,1218 gegenüber 0,0407 bei einer Kontrollgruppe; $Chi^2 = 26,9$; $p = 2x10^{-7}$)

HLA-A 2-B 8-DR 3 (0,0372 gegenüber 0,0048 bei einer Kontrollgruppe; $Chi^2 = 14,1$; $p = 0,0002$)

Um nachzuweisen, daß B 8 nur sekundär aufgrund seines starken Kopplungsungleichgewichts mit DR 3 erhöht ist, wurden die sowohl B 8- als auch DR 3-positiven Zöliakiepatienten (40) den B 8-positiven, aber DR 3-negativen Pateinten (8) in einer Vierfeldertafel gegenübergestellt und der Chi^2-Wert berechnet. Er errechnete sich zu $Chi^2 = 22,2$ bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \cong 2x10^{-6}$ und war damit signifikant. Somit war der Beweis einer primären Assoziation der Zöliakie mit HLA-DR 3 erbracht.

Der Versuch, in analoger Weise die Erniedrigung von B 7 mit einem engen Kopplungsungleichgewicht zu dem ebenfalls signifikant verringerten DR 2-Antigen zu erklären, und damit den Beweis für eine primär negative Assoziation zu DR 2 zu erbringen, führte jedoch nicht zu signifikanten Ergebnissen. Dies könnte an der durch die signifikante Verringerung von DR 2 und B 7 bedingten kleinen Zahl von Patienten liegen, die eines oder beide Antigene besitzen.

4. Heterozygotenhäufigkeit und damit verbundenes relatives Risiko (RR) für eine Erkrankung

Tabelle IX zeigt die Verteilung von Homozygoten und Heterozygoten hinsichtlich der beiden HLA-DR-Antigene HLA-DR 3 und HLA-DR 7.

Zu erwähnen ist, daß alle bei der DR-Typisierung als "fraglich homozygot" geltenden Patienten in dieser Tabelle als homozygote (DR 3/DR 3 bzw. DR 7/DR 7) geführt wurden, was eine gewisse Überschätzung darstellt. Mit X wurden alle diejenigen HLA-DR-Allele bezeichnet, die weder DR 3 noch DR 7 sind, oder aber bisher noch nicht identifiziert werden konnten (sogenannte "blanks"). Die Anzahl der Patienten mit den jeweiligen Genotypen wurde einer aus den Genfrequenzen bei Zugrundelegen einer Hardy-Weinberg-Verteilung errechneten erwarteteten Anzahl gegenübergestellt und die Chi^2-Werte ermittelt. Für den Genotyp DR 7/DR 7 ($Chi^2 = 3,04$; $p = 0.07$) fanden wir eine geringgradige Abweichung.
Als mögliche Erklärung für die Erhöhung von DR 7/DR 7 könnte man eine Überschätzung der Homozygoten anführen (siehe oben), da dieser Genotyp wesentlich seltener auftritt als der Genotyp DR 3/DR 3 und eine Überschätzung sich daher hier wesentlich stärker auswirkt.
In der hier untersuchten Stichprobe war -- im Gegensatz zu früheren eigenen Ergebnissen und anderen Publikationen -- das starke Überwiegen des HLA-DR 3/7 Heterozygoten-Typs nicht zu beobachten. Dafür waren die DR 3/3 und die DR 7/7 Homozygoten etwas überrepräsentiert.
Die Abweichung für DR X/X hat keine Bedeutung, weil unter "X" die Allele DR 1, 2, 4, 5 und w6 subsummiert sind.

Bei der Berechnung des relativen Risikos für Homozygote und Heterozygote hinsichtlich der beiden HLA-DR-Antigene DR 3 und DR 7 wurden den 120 Grazer Patienten 2499 Kontrollpersonen gegenübergestellt:
Nach der Formel:

$$RR = \frac{\text{Anzahl der Pat. mit Antigen} \times \text{Anzahl einer Kontrolle ohne Antigen}}{\text{Anzahl der Pat. ohne Antigen} \times \text{Anzahl einer Kontrolle mit Antigen}}$$

wurden dann die Werte für das relative Risiko (RR) für eine

Erkrankung an Zöliakie ermittelt.

Aufgrund unserer Ergebnisse stellt der Genotyp DR 3/DR 3 das höchste relative Risiko (RR = 12.2) für eine Erkrankung an Zöliakie dar, an zweiter Stelle stehen die Genotypen HLA-DR 3/DR 7 (RR = 5.6) und HLA-DR 7/DR 7 (RR = 5.7).

Beim Vergleich von Studien aus anderen Ländern erkennt man, daß die angegebenen Werte für das relative Risiko stark schwanken.

VI. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die Übereinstimmung mit Ergebnissen aus früheren Studien konnte bei unserer Untersuchung auch eine signifikante Frequenzerhöhung von HLA-A 1 (51 % bei Zöliakiepatienten gegenüber 27,5 % einer gesunden Kontrollgruppe), HLA-B 8 (49 % bei den Patienten gegenüber 15,7 % bei einer Kontrollgruppe) und HLA-B 13 (16 % gegenüber 5,6 %) festgestellt werden.
Unsere Ergebnisse bezüglich HLA-B 13 stimmen ziemlich genau mit denen überein, die DeMarchi, Borelli und Mitarbeiter an 104 italienischen Patienten ermittelten:

HLA-B 13 bei den Patienten 17,3 % gegenüber 5,9 % bei einer Kontrollgruppe; $p < 10^{-3}$; RR = 3,35 *.

Es liegt aber die Annahme nahe, daß die Erhöhung dieses Antigens mit seiner Assoziation zu DR 7 zu erklären ist. Wir fanden eine Genfrequenz von 0,0749/10 000 Patienten für HLA-B 13, wobei 0,0661/10 000 Patienten zugleich DR 7-positiv war (entsprechend 88,2 % der B 13-Träger).
Ein weiteres Ergebnis unserer Untersuchung ist die signifikante, über das kompensatorische Maß hinausgehende Verminderung von HLA-B 7 mit 8,2 % bei den Patienten im Vergleich zu 16,8 % in der Kontrollgruppe ($Chi^2 = 6,2$; $p = 0,015$).
Diese Verringerung war jedoch nicht so stark ausgeprägt, wie sie von Harms mit 6 % gegenüber 30 % angegeben wurde.

Eine analoge, ebenfalls überkompensatorische Verminderung konnte für das mit HLA-B 7 eng assoziierte HLA-DR 2-Antigen mit 7,5 % bei den Patienten gegenüber 25,1 % bei der Kontrollgruppe nachgewiesen werden.

---

* Coeliac Disease and HLA-Polymorphismus, IV. International Immunology Congress, Paris, June 1980, unpublished).

Eine signifikante Verminderung von D w2 bzw. DRw2 wurde auch bei Patienten mit juvenilem Diabetes nachgewiesen (Platz und Mitarbeiter 77, Ilonen und Mitarbeiter 78)(75).

Der Versuch, die Verminderung von B 7 auf die Assoziation mit DR 2 zurückzuführen und damit als sekundäre Verminderung zu erklären, führte jedoch wegen zu kleiner Zahlen nicht zu signifikanten Ergebnissen. Man nimmt allerdings dennoch die Existenz eines primär mit HLA-DR 2 assoziierten "Schutzgens" an.

Im Gegensatz zu der irischen Studie konnte keine signifikante Erniedrigung des Antigens HLA-DR 1 festgestellt werden (84). Ein weiteres Ergebnis unserer Berechnungen ist die Bestätigung von Keunings Entdeckung einer primären Assoziation zu DR 3 im Vergleich zu HLA-B 8. Unsere Ergebnisse zeigen allerdings eine schwächere Assoziation:
48 von insgesamt 120 Patienten waren B 8-positiv im Vergleich zu 77 DR 3-positiven Patienten (vgl. Keuning 27/28 D w3-positive, 22/28 B 8-positve) (42).
Dies beruht wohl einmal auf dem geringer ausgeprägten Kopplungsungleichgewicht zwischen HLA-B 8, DR 3 und dem/den Krankheitsempfänglichkeitsgen(en) in unserer ethnischen Gruppe oder auch auf dem gleichzeitigen Anstieg HLA-DR 7. Unsere Ergebnisse bezüglich der Hetero- und Homozygotenverteilung entsprachen nicht den Erwartungen und auch nicht den Ergebnissen früherer Studien.
Das höchste relative Risiko (RR) für eine Erkrankung hätten aufgrund der Berechnungen DR 3-homozygote, dann heterozygote DR 3/DR 7 und DR 7-homozygote Personen. Die früheren Ergebnisse aus dem süddeutschen und österreichischen Raum (2) geben das höchste relative Risiko mit 7,45 für die heterozygoten DR 3/DR 7-Träger an. Die Turiner Forscher DeMarchi, Borelli und Mitarbeiter kamen 1980 bei ihrer Untersuchung von 104 Patienten zu folgendem Ergebnis: Das höchste RR tragen DR 3-Homozygote mit RR = 10,9, danach folgen DR 3/DR 7-Heterozygote

mit RR = 8,4. Ein geringeres RR mit 2,9 tragen DR 3/X Genotyp-Träger *.

Bei den von Ch. Brautbar untersuchten 43 jüdischen Patienten wiesen die Heterozygoten DR 3/DR 7-Träger das höchste RR (10,05) auf, an zweiter Stelle stehen homozygote DR 3-Träger mit RR = 3,87 (84).
Die Heterozygotenfrequenz ist auch in Irland erhöht, während die Antigenfrequenz von DR 7 allein keine Erhöhung zeigt.

Aufgrund verschiedener Studien ist eine Assoziation des/der Krankheitsempfänglichkeitsgene mit zwei verschiedenen Allelen DR 3 und DR 7 nachgewiesen.
Eine direkte Beteiligung beider Allele an der Pathogenese der Erkrankung ist allerdings fraglich, da eine Reihe von Patienten weder HLA-DR 3- noch HLA-DR 7-Genträger sind. Sie stellen jedoch wahrscheinlich Marker für die eng mit ihnen assoziierten Krankheitsempfänglichkeitsgene dar.
Ein genetisches Modell der HLA-gekoppelten Empfänglichkeit für Zöliakie würde demnach mindestens drei verschiedene Gene umfassen:
eines assoziiert mit DR 3, ein zweites assoziiert mit DR 7 und ein Gen mit einem relativen "Schutz"-Effekt, das mit DR 2 und B 7 assoziiert ist.

Eine sehr ähnliche Situation liegt beim juvenilen Diabetes mellitus vor, der mit HLA-DR 3 und HLA-DR 4 assoziiert ist und bei dem ebenfalls eine Verminderung von DR 2 beobachtet wird. Nachdem beim juvenilen Diabetes außerdem ein gehäuftes Auftreten seltener Komplementvarianten, wie C 2^2, C $4f^O$ S, C 4^M, C 4x" festgestellt wurde, wobei die entsprechenden Gen-

---

* Coeliac Disease and HLA-Polymorphismus, IV. International Immunology Congress, Paris, June 1980, unpublished).

orte dem DR-Genlocus eng benachbart sind, stellten Rittner und Bertrams folgende Oberlegungen an:

1. DR 3- und DR 4-Allele stehen eventuell in einem Kopplungsungleichgewicht zu "fehlerhaften" Immunantwortgenen, die eine veränderte zelluläre und humorale Immunantwort bedingen.
2. Seltene Komplementgene und bestimmte DR-Gene wirken additiv.
3. Der Beitrag der Komplementvarianten an der Pathogenese des juvenilen Diabetes könnte eventuell in einer fehlerhaften Antigenpräsentation an der Zelloberfläche und damit einer Verhinderung der Zerstörung durch T-Lymphozyten bestehen (75).

Da die Assoziation zu zwei verschiedenen DR-Allelen bereits eine Parallele zur Zöliakie darstellte, versuchten wir in unserer Studie eventuell auch den Nachweis eines gehäuften Auftretens seltener Komplementvarianten (speziell des C 2-Systems) nachzuweisen.
Dies gelang uns jedoch nicht. Es zeigten sich keinerlei Abweichungen von den Werten einer Kontrollgruppe.

VII. ZUSAMMENFASSUNG UND MÖGLICHE ANSATZPUNKTE ZUR WEITEREN KLÄRUNG DER PATHOGENESE DER ZÖLIAKIE

Die Beurteilung aller Ergebnisse führt zu folgenden Oberlegungen im Hinblick auf die genetische Disposition für Zöliakie:

Die Krankheitsdisposition für Zöliakie wird von HLA-Antigenen wesentlich beeinflußt. Die wesentliche Assoziation kommt -- neben der zu den HLA-A-(A 1) und HLA-B-(B 8 und B 13) Antigenen -- den DR-Antigenen zu.
Unsere Ergebnisse legen die Diskussion eines genetischen Modells nahe, bei dem drei Gene die genetische Disposition für Zöliakie beeinflussen:

DR 3, DR 7 und DR 2,

wobei HLA-DR 3 und HLA-DR 7 positiv und HLA-DR 2 negativ -- im Sinne eines protektiven Effekts -- mit der Zöliakie assoziiert sind.
Diese Befunde legen die Vermutung nahe, daß mehrere verschiedene Krankheitsempfänglichkeitsgene für Zöliakie existieren, die zusammenwirken.
Eine direkte Beteiligung der Allele HLA-DR 3 und HLA-DR 7 bzw. ihrer Genprodukte an der Pathogenese der Erkrankung erscheint weiterhin wegen des Auftretens von Patienten, die keines der beiden genannten Antigene besitzen, fraglich.
Eine mögliche Hypothese ist, daß HLA-DR 3 und HLA-DR 7 -- entsprechend ihrer Ähnlichkeit zu den Ia-Antigenen der Maus -- mit "abnormen" Immunantwortgenen assoziiert sind, die zu einer veränderten humoralen und zellulären Immunantwort führen. Auf diese Weise könnte eine immunologisch vermittelte und durch Gluten ausgelöste Zytotoxizität am Darmepithel bedingt sein.

Die Analyse anderer Gene des Chromosoms Nr. 6 -- speziell C 2 -- lieferte keine Anhaltspunkte für eine eventuell noch engere Assoziation mit dem (den) Krankheitsempfänglichkeitsgen(en) gegenüber den HLA-DR-Antigenen.

Zwei weitere Ansatzpunkte zur Klärung der genetischen Disposition der Zöliakie sind denkbar:

Obgleich die Analyse des C 2-Komplementsystems bei dieser Fragestellung nicht weiterführte, sollte man das komplexere C 4-System hinsichtlich eines Zusammenhanges zwischen dem Auftreten der Krankheit Zöliakie und dem Auftreten seltener Varianten dieses Komplexes untersuchen.

Eine zweite Aufgabe stellt die Suche nach weiteren, eine gewisse Schutzfunktion bezüglich der Krankheitsentstehung vermittelnden Antigenen, wie z.B. HLA-B 7 und HLA-DR 2 dar.

VIII. TABELLEN I - IX

Tabelle I:

Phänotypfrequenzen von 306 Patienten (47 aus Wien, 95 aus München, 164 aus Graz) und 306 Personen aus einer Kontrollpopulation

A-Locus:	Patienten			Kontrollpersonen
	n*	Ph %	Chi^2	Ph %
HLA-A 1	156	51,0	35,5**	27,5
A 2	136	44,4	-	45,3
A 3	73	23,9	-	21,9
A 9	55	18,0	-	22,7
A 10	31	10,1	-	10,9
A 11	26	8,5	-	11,5
A 19	6	2,0	-	3,3
A 28	15	4,9	-	7,7
A 29	12	3,9	-	7,4
A 30	14	4,6	-	4,7
A 31	5	1,6	-	5,4
A 32	15	4,9	-	8,8
A 33	6	2,0	-	3,3

** $pcorr < 10^{-7}$

n* = Anzahl der positiven Individuen

Tabelle II:

Phänotypfrequenzen von 306 Patienten mit 306 Personen aus einer Kontrollpopulation

B-Locus	Patienten			Kontroll-personen
	n*	Ph %	Chi^2	
HLA-B 5 (51)	51	16,6	-	16,8
B 7	25	8,2	6,2[c]	16,8
B 8	150	49,0	77,7[a]	15,7
B 12 (44)	64	20,9	-	22,9
B 13	49	16,0	17,4[b]	5,6
B 14	17	5,5	-	5,8
B 15 (62)	23	7,5	-	11,4
B 16 (38, 39)	20	6,5	-	9,1
B 17 (57, 58)	18	5,8	-	8,4
B 18	28	9,2	-	11,2
B 21 (49, 50)	21	6,9	-	7,0
B 22 (54, 55, 56)	4	1,3	-	5,5
B 27	21	6,9	-	7,7
B 35	41	13,4	-	18,2
B 37	3	1,0	-	3,0
B 40 (60, 61)	20	6,5	-	10,0
B 41	4	1,3	-	2,0
B 47	1	0,3	-	0,9
B 59	1	0,3	-	0,9

a) $pcorr < 10^{-8}$

b) pcorr = 0,000093

c) p = 0,015

n* = Anzahl der positiven Individuen

Tabelle III:

Prüfung, ob HLA-B 7 über das kompensatorische Maß hinaus verringert ist:

Genfrequenzen als Anzahl pro 10.000 bzw. als Anzahl von 306 ( );

	Kontrollpopulation	Patienten	
		erwartete Genfrequenz	beobachtete Genfrequenz
HLA-B 7	0,088	0,067 (41)	0,0408 (25)
HLA-B 8	0,082	--	0,2655
HLA-B 13	0,028	--	0,0833

$$Chi^2 = \frac{(\text{erwartete Anzahl} - \text{beobachtete Anzahl})^2}{\text{erwartete Anzahl}}$$

$$Chi^2 = \frac{(41 - 25)^2}{41} = 6.2 \; ; \quad p = 0{,}015$$

Tabelle IV:

Phänotypfrequenzen von 120 Patienten (55 von 1978 und 65 1981 untersuchte) und 120 Kontrollpersonen

DR-Locus:	Patienten			Kontrollpersonen
	n*	Ph %	Chi^2	Ph %
DR 1	7	5,8	-	13,3
DR 2	9	7,5	-	25,1
DR 3	70	58,3	37,0 [a]	20,4
DR 4	16	13,3	-	18,3
DR 5	32	26,6	n.s. (1,9)	19,5
DR 6	9	7,5	-	4,3
DR 7	51	42,5	9,98 [b]	23,4
DR 8	1	1,0	-	5,4
DR 9	4	3,3	-	2,2

a: $pcorr < 10^{-8}$

b: $pcorr < 0,013$

n* = Anzahl der positiven Individuen

Tabelle V:

a) Genfrequenzen von 120 Patienten verglichen mit 120 Kontrollpersonen:

	Kontrolle (N = 120)	Patienten (N = 120)	
	beobachtete Genfrequenzen	beobachtete Genfrequenzen	erwartete Genfrequenzen
DR 1	0,069	0,0291	0,0411
DR 2	0,134	0,0397	0,0798
DR 3	0,108	0,3203	-
DR 4	0,096	0,0729	0,0571
DR 5	0,103	0,1396	0,0613
DR 6	0,022	0,0380	0,0131
DR 7	0,125	0,2233	-
DR X	0,343	0,1371	0,2041

DR (3 + 7) : 0,2330 (Kontrolle) DR (3 + 7) : 0,5436 Δ = 0,3106 (Patienten)

1 - DR (3 + 7) : 0,7670

- 0,3106 = 0,4564

X · Σ DR = 0,4564

X = 0,4564/0,7670

f = 0,595

b) Oberprüfung, ob DR 1, 2, 4, 5, X über das kompensatorische Maß hinaus verringert sind:

	Anzahl der untersuchten Patienten (≙ Genfrequenz x 240)	erwartete Anzahl	Chi^2	
DR 1	7,0	9,86	0,8	n.s.
2	9,5	19,15	4,8	a
3	-	-	-	
4	17,5	13,7	1,0	
5	33,5	14,7	24,0	b
6	9,12	3,1	-	
7	-	-	-	
X	32,9	49,0	5,29	

$$Chi^2 = \frac{(\text{Anzahl der pos. Individuen - erwartete Anzahl})^2}{\text{erwartete Anzahl}}$$

a: $p = 0{,}03$

b: $p = 10^{-6}$

Tabelle VI:

C 2 Phänotypen und C 2 Genfrequenzen von 65 Grazer Patienten:

C 2 Phänotypen	Anzahl der Patienten (N = 65)
$C\ 2^1 / C\ 2^1$	61
$C\ 2^1 / C\ 2^2$	3
$C\ 2^1 / C\ 2^3$	1

	Genfrequenzen der Patienten (N = 65)		Genfrequenzen e. Kontr.
	absolut	in %	in %
$C\ 2^1$	126	0,969	0,975
$C\ 2^2$	3	0,023	0,043
$C\ 2^3$	1	0,008	-
Summe	130	1.000	1.000

Phänotypfrequenzen der 65 Grazer Patienten:

Phänotypen	beobachtete Anzahl	nach dem Hardy-Weinberg-Gesetz erwartete Anzahl
$C\ 2^1 / C\ 2^1$	61	60
$C\ 2^1 / C\ 2^2$	3	2,9
$C\ 2^2 / C\ 2^2$	0	0,03
$C\ 2^1 / C\ 2^3$	1	1,0
$C\ 2^2 / C\ 2^3$	0	0,02
$C\ 2^3 / C\ 2^3$	0	0,004
Summe	65	64,954

Tabelle VII: Ausgezählte Haplotypen HLA-A-B als Zahl pro 10 000 (N = 306 Zöliakiepatienten)

	HLA-B	B51			B44			B62	B38,39	B57,58		B49,50	B54,55,56	B60,61							
HLA-A		B5	B7	B8	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B21	B22	B27	B35	B37	B40	B41	B47	B59	X	Summe
	A 1	143	16	2021	63	72	23	42	49	50		19		96	159				4		51	2808
	A 2	264	83	337	393	267	33	228	62	114	215	98		65	116		144				141	2560
	A 3	179	203	115	103	106	61	7	16		82	35		67	161		36		12	16	49	1248
A23 A24	A 9	65	20	50	178	89		49	41	33	33	96		61	45	16	49	16			58	899
A25 A26	A 10	49	32	33		16	17		130	41	49	20	33	17	29		16	17			16	515
	A 11	82	33	25	33	16		17	16	16	16	33	16		98		12				20	433
	A 19				16	17					16			16			16				17	98
	A 28	16			66	33	16			16			16	16	33	17	16					245
	A 29			16	147				17	16												196
	A 30	17			17	114	16		16		16										33	229
	A 31			13		17								16		16		4			16	82
	A 32	16		33	34		33	16			33	29		2			17	16			16	245
	A 33	14	3		1	9	32				16				23							98
	X	19	18	12	24	77	47	17	4	9	2			3	6		33				73	344
Summe		864	408	2655	1075	833	278	376	351	295	478	330	65	359	670	49	339	53	16	16	430	10000

Tabelle VIII (1-9): Ausgezählte Haplotypen HLA-A-B-DR als Zahl pro 10 000 (N = 120 Zöliakiepatienten aus Graz)

1. HLA-A-B-DR 1

	DR 1	B51			B44			B62	B38,39	B57,58		B49,50	B54,55,56		B60,61					
		B5	B7	B8	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B21	B22	B27	B35	B37	B40	B41	B47	B59	X Summe
	A 1	42																			42
	A 2														42			42			84
	A 3																				
A23 A24	A 9																	42			42
A25 A26	A 10																				
	A 11														83						83
	A 28																				
	A 29																				
	A 30																				
	A 31																				
	A 32	41																			41
	A 33																				
	X																				
Summe		83													125			84			291

Tabelle VIII 2:

2. HLA-A-B-DR 2

	DR 2	B51,52			B44			B62	B38,39	B57,58		B49,50	B54,55,56			B60,61					X	Summe
		B5	B7	B8	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B21	B22	B27	B35	B37	B40	B41	B47	B59		
	A 1		42	4					21		2				42							111
	A 2	32	42								36											110
	A 3	10	33									42		3								88
A23 A24	A 9		4																			4
A25 A26	A 10																					
	A 11		42		42																	84
	A 28																					
	A 29																					
	A 30																					
	A 31																					
	A 32																					
	A 33																					
	X																					
Summe		42	163	4	42				21		38	42		3	42							397

Tabelle VIII 3:

3. HLA-A-B-DR 3

	DR 3	B51,52			B44			B62	B38,39	B57,58		B49,50	B54,55,56				B60,61					
		B5	B7	B8	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B21	B22	B27	B35	B37	B40	B41	B47	B59	X	Summe
	A 1	10		1218						42				16	8						1	1295
	A 2	22		372	75	42	2		42	83	87	42		18	15		42				1	843
	A 3	4	8	45	8		38		42		42	17			45							249
A23 A24	A 9											83		41				42				166
A25 A26	A 10								42	63		13		18								136
	A 11			28						42			19									89
	A 28														17							17
	A 29				10	1																11
	A 30					30																30
	A 31			8	4																	12
	A 32				8							8					41	42				99
	A 33	2	38		15		65															120
	X	5		3	8					21				18	33						48	136
Summe		43	46	1647	128	73	105		126	251	129	163	19	111	118		83	84			50	3203

Tabelle VIII 4:

4. HLA-A-B-DR 4

	DR 4	B51,52			B44			B62	B38,39	B57,58		B49,50	B54,55,56				B60,61				X	Summe
		B5	B7	B8	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B21	B22	B27	B35	B37	B40	B41	B47	B59		
	A 1	39					3															42
	A 2				141			125	21					15	10							312
	A 3	45			39		39					8		42								173
A23 A24	A 9											26		83								109
A25 A26	A 10								42													42
	A 11																					
	A 28	2																				2
	A 29																					
	A 30																					
	A 31																					
	A 32				17							8										25
	A 33																					
	X				2				21					1								24
Summe		86			199		42	125	84			42		141	10							729

Tabelle VIII 5:

5. HLA-A-B-DR 5

	DR 5	B51,52			B44			B62	B38,39	B57,58		B49,50	B54,55,56				B60,61				X	Summe
		B5	B7	B8	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B21	B22	B27	B35	B37	B40	B41	B47	B59		
	A 1			48					42			42			41							173
	A 2	97	43					41			40			42	2		41				21	327
	A 3	24	42									42		4	64		1					177
A23 A24	A 9	42	2	1	34						42	38		34	30						42	265
A25 A26	A 10								41		42				21			42				146
	A 11											63			42							105
	A 28				42											21						63
	A 29																					
	A 30																					
	A 31																					
	A 32										42											42
	A 33					5					41				10							56
	X						41				1											42
Summe		163	87	49	76	5	41	41	83		208	185		80	210	21	42	42			63	1396

Tabelle VIII 6:

6. HLA-A-B-DR 6

	DR 6	B51,52			B44			B62	B38,39	B57,58		B49,50	B54,55,56				B60,61				X	Summe
		B5	B7	B8	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B21	B22	B27	B35	B37	B40	B41	B47	B59		
	A 1																					
	A 2	28	13							10												51
	A 3	14	111		42		2															169
A23 A24	A 9																					
A25 A26	A 10		42						84													126
	A 11																					
	A 28																					
	A 29																					
	A 30																					
	A 31			1	3																	4
	A 32																					
	A 33																					
	X		23				2			5												30
Summe		42	189	1	45		4		84	15												380

Tabelle VIII 7:

7. HLA-A-B-DR 7 und HLA-A-B-DR 8

	DR 7/8	B51,52			B44			B62	B38,39	B57,58		B49,50	B54,55,56	B60,61							
		B5	B7	B8	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B21	B 22	B27	B35	B37	B40	B41	B47	B59	X	Summe
	A 1	28		93	80	65		9						52	47				3		17	394
	A 2	29	15	3	148	65	57		4	27		42			10						20	420
	A 3			42		193		17											38	42		332
A23 A24	A 9	*41*			131	135			33			3			12						8	*41* 322
A25 A26	A 10				42							18			38							98
	A 11	54				42						21										117
	A 28				42	41										21						104
	A 29				155																	155
	A 30				1	52												42				95
	A 31					42										42						84
	A 32			14			42															56
	A 33				2	26	1															29
	X	18			4									5								27
Summe		129	15	152	605	661	100	26	37	27		84		57	107	63		42	41	42	45	*41* 2233

Tabelle VIII 8:

8. HLA-A-B-DR 9

	DR 9	B51,52			B44			B62	B38,39	B57,58		B49,50	B54,55,56				B60,61				X	Summe
		B5	B7	B8	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B21	B22	B27	B35	B37	B40	B41	B47	B59		
	A 1																					
	A 2										42											42
	A 3	41													42							83
A23 A24	A 9																					
A25 A26	A 10																					
	A 11	42																				42
	A 28																					
	A 29																					
	A 30																					
	A 31																					
	A 32																					
	A 33																					
	X																					
Summe		83									42				42							167

Tabelle VIII 9:

9. HLA-A-B-DR X

	DR X	B51,52 B5	B7	B44 B8	B12	B13	B14	B62 B15	B38,39 B16	B57,58 B17	B18	B49,50 B21	B54,55,56 B22	B27	B60,61 B35	B37	B40	B41	B47	B59	X	Summe
	A 1			70		3		7	21			1			120						22	244
	A 2	42		12	46				38					41	63						14	256
	A 3	78				7		7			41											133
A23 A24	A 9	41										13			35	42						131
A25 A26	A 10								41			14		24	21							100
	A 11	29		2									23									54
	A 28	39													24							63
	A 29																					
	A 30										42											42
	A 31				25																	25
	A 32			28																		28
	A 33	2																				2
	X			12													42			31		85
Summe		231		124	71	10		14	100		83	28	23	65	263	42	42			31	36	1163

Tabelle VII a: HLA-A-B-Haplotypen

Folgende Haplotypen sind erhöht:

	Haplotypfrequenzen als Anzahl pro 10.000 bwz. als Anzahl pro 612 Haplotypen ( ); Patienten (N=306)	Kontrollpopulation (N=306)	Chi^2	P
HLA-A 1-B 8	2021 (1237)	576 (35,3)	56,6	$p < 10^{-10}$
HLA-A 2-B 8	337 (20,6)	73 (4,5)	9,3	$p \cong 0{,}002$
HLA-A 2-B13	267 (16,3)	67 (4,1)	6,3	$p \cong 0{,}015$

Tabelle VIII a: HLA-A-B-DR-Haplotypen

	Patienten (N=120)	Kontrollpopulation (N=120)	Chi^2	P
A 1-B 8-DR 3	1218 (74,5)	407 (24,9)	26,9	$p = 2.10^{-7}$
A 2-B 8-DR 3	372 (22,7)	48 (2,9)	14,1	$p = 0{,}0002$

	Anzahl der Patienten (N=120)
B 8+DR 3+	40
B 8-DR 3+	37
B 8+DR 3-	8

Vgl. $B\ 8^+$ $DR\ 3^+$: B 8 + DR 3 - $Chi^2 = 22{,}2$; $p \cong 2 \times 10^{-6}$

Tabelle IX:

Verteilung von Homozygoten und Heterozygoten und Berechnung des RR für eine Erkrankung an CD:

N = 120 Grazer Patienten:

Haplotypen	Anzahl der untersuchten Patienten	erwartete Anzahl	Chi^2
3/3	15	12,3	0,6
3/X	39	35,3	0,6
3/7	16	16,9	0,05
7/7	10	5,8	3,04
7/X	25	24,3	0,02
(X/X	15	25,4	4,26)
Summe:	120	120	8,57

Zahl der Freiheitsgrade: 2 ($\nu = n - 1 - 3 = 2$)

$p \cong 0.07$.

Vergleich mit 2499 Kontrollpersonen:

	+ Pat.	-	+ Kontr.	-	RR
3/3	15	105	29	2470	12,2
3/X	39	81	414	2085	2,4
3/7	16	104	67	2432	5,6
7/7	10	110	39	2460	5,7
7/X	25	95	479	2020	1,1
X/X	15	105	1470	1029	0,1

$$\text{z.B. } RR = \frac{15 \times 2470}{29 \times 105} = 12,2$$

IX. LITERATURVERZEICHNIS

1. Albert, E.D., Harms, K., Wank, R., Steinbauer-Rosenthal, I. & Scholz, S., (1973)
Segregation analysis of HL-A antigens and haplotypes in 50 families of patients with coeliac disease.
Transplantation Proceedings, 5, 1785.

2. Albert, E.D., Harms, K., Bertele, R., Andreas, A., Nicholas, A., Kuntz, B., Scholz, S., Schießl, B., Wetzmüller, H., Reissinger, P., Weeser-Krell, Ch.,
B-cell alloantigens in coeliac disease. Perspectives in Coeliac Disease,
ed. by B. McNicholl, C.F. McCarthy and P.F. Fottrell,
(1977), p 123-129.

3. Albert, E.D., Scholz, S.,
Das Haupthistokompatibilitätssystem (HLA) des Menschen: Serologie, Genetik und klinische Bedeutung.
Immunforschung in Klinik und Labor.
Wissenschaftliche Informationen Fresenius Stiftung
(1979), S. 77-105.

4. Albert, E.D., Götze, D.,
The Major Histocompatibility System in Man,
The Major Histocompatibility System in Man and Animals.
Springer Verlag, Berlin Heidelberg,
(1977), S. 7-77.

5. Allen, F.H., Jr. (1974)
Linkage of HLA and GBG.
Vox Sang. 27, 382-284.

6. Alper, C.A.,
Inherited structural polymorphism in human C 2.
Evidence for genetic linkage between C 2 and Bf.
(1976), J. Exp. Med. 144: 1111-1115.

7. Bachmann, K.D., Ewerbeck, H., Joppich, G., Kleinhauer, E., Rossi, E., Stalder, G.R.,
Pädiatrie in Praxis und Klinik, in drei Bänden, Band II,
Gustav Fischer Verlag, Georg Thieme Verlag, (1980),
S. 13.165-13.169.

8. Batchelor, J.R., Morris, P.J., (1978)
HLA and disease.
In: Bodmer, W.F. (ed.) Histocompatibility testing
(1977), Munksgaard, Copenhagen, pp 205-206.

9. Bender, K.,
Das HLA-System
Frankfurt: Biotest-Serum Institut GmbH, (1978).

10. Bertrams, J., Rittner, Ch., (to be published)
Der HLA-Komplex: Immungenetische Steuerzentrale des Menschen.
Dtsch. Med. Wochenschrift.

11. Bertrams, J., Dewald, G., Spitznas, M., Rittner, Ch., (to be published [b])
HLA-A,B,C,DR,Bf, and C 2 alleles in insulin dependent diabetes mellitus with proliferative retinopathy.
Immunobiology.

12. Bertrams, J., Opferkuch, W., Grosse-Wilde, H., Luboldt, W., Schuppien, W., Kuwert, E., (1976)
C 2 hypocomplementemia in multiple sclerosis.
Lancet II: 1358-1359.

13. Betuel, H., Gebuhrer, L., Descos, L., Percebois, H., Minaire, Y., Bertrand, J.,
Adult celiac disease associated with HLA-DRw 3 and -Drw 7.
Tissue Antigens, 15 (3), S. 231-238, (1980).

14. Bodmer, W.F., Parsons, P.A., (1962)
Linkage and recombination in evolution.
Adv. Genet. 11: 1-4.

15. Bodmer, W.F., (1979)
Gene clusters and the HLA system.
Ciby Found Symp 66: 205-229.

16. Borelli, J., Ansaldi, N., DeMarchi, M., Malavasi, F., Richiardi, P., Barbera, C., Santini, B., Bracco, G., Carbonara, A., Curtoni, E.S.,
Coeliac disease and HLA-polymorphism.
IV. Internat. Immunology Congress, Paris, June 1980.

17. Bosh, Ch., Becker, M., Rotthauwe, H.W., Opferkuch, W.,
Complement studies in children with treated coeliac disease after gluten challenge.
European Journal of Pediatrics, 134 (2), S. 145-148, (1980).

18. Bridges, C.B., (1919)
Duplication. Anat. Rec. 15: 357-358.

19. Bruun-Petersen, G., Green, A., Kristensen, B.Ø., Zachariae, H., (1980)
C 4 allotypes in psoriasis, diabetes mellitus, and essential hypertension.
Abstract. V. European Complement Workshop, Lund, p 35.

20. Collins, S.M., M.B., M.R.C.R., J.R., Hamilton, M.B., F.R.C.P. (C), T.D. Lewis, M.B., F.R.C.P. (C), I. Laufer, M.D., F.R.C.P. (C)[2],
Small bowel malabsorption and gastrointestinal malignancy.
Radiology 126, S. 603-609 (1978).

21. Dausset, J. & Hors, J. (1975)
Some contributions of the HLA complex to the genetics of human diseases.
Transplantation Reviews, 22,44.

22. DeMarchi, M., Borelli, J., Olivetti, E., Richiardi, P., Wright, P., Ansaldi, N., Barbera, C., Santini, B.,
Two HLA-D and -DR alleles are associated with coeliac disease.
Tissue Antigens, 14 (4), S. 309-316, (1979).

23. Demling, L.,
Klinische Gastroenterologie.
Band I: Diagnostische Obersicht, Mundhöhle und Rachen, Speiseröhre, Magen, Darm.
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1973), S. 304-309.

24. Dennis, N.R., Stokes, C.R.,
Risk of coeliac disease in children of patients and effect of HLA-genotyp.
Journal of Medical Genetics, 15 (1), S. 20-22, (1978).

25. Dicke, E.K.,
Coeliakie. Een onderzoek naar de naadelige invloed van sommige graansorten op de lijder aan coeliakie.
Thesis, Utrecht (1950).

26. Ek, J., Albrechtsen, D., Solheim, B.G., Thorsby, E., Strong association between the HLA-Dw3 related B-cell alloantigen -DRw3 and coeliac disease. Scand. Journal of Gastroenterology, 13 (2), S. 229-33, (1978).

27. Evans, D.A.P., (1973) Coeliac Disease and HL-A8 (Letter). Lancet, ii, 1096.

28. Falchuk, Z.M., Update on gluten-sensitive enteropathy. Am. Journal of Medicine, 67 (6), S. 1085-1096, (1979).

29. Falchuk, Z.M., Nelson, D.L., Katz, A.J., Bernardin, J.E., Kasarda, D.D., Hague, N.E., Strober, W., Gluten-sensitive enteropathy. Influence of histocompatibility typ on gluten-sensitivity in vitro. Journal of Clinical Investigations, 66 (2), S. 227-33, (1980).

30. Falchuk, Z.M., Rogentine, G.N. & Strober, W., (1972) Predominance of histocompatibility antigen HL-A8 in patients with gluten sensitive enteropathy, J. clin. Invest. 51, 1602.

31. Festenstein, S. Nynlassy Workshop on HLA and disease. Transplantation Proc., 11 (1), S. 1183-5, (1979).

32. Fu, S.M., Kunkel, H.G., Brusman, H.P., Allen, F.H., Jr. & Fohino, M., (1974) Evidence for linkage between HL-A histocompatibility genes and those involved in the synthesis of the second component of complement. J. Exp. Med. 140, 1108-1111.

33. Gee, S.,
On the coeliac affection.
St. Barth. Hosp. Rep. 24, 17 (1888).

34. Götze, D. (Hrsg.),
The Major Histocompatibility System in Man and Animals.
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1977.

35. Grüttner, R., Stern, M.,
Coeliakie - Klinik und Pathogenese
Monatsschrift für Kinderheilkunde, 128 (3), S. 109-117, (1980).

36. Harms, K.,
Indikation und Aussagefähigkeit der Dünndarmbiospie im Kindesalter.
Pädiat. Prax., 13, 1973/74, 87-95.

37. Harms, K., Granditsch, G., Rossipal, E., Ludwig, H., Polymenidis, Z., Scholz, S., Wank, R. & Albert, E.D., (1975)
In: Coeliac Disease: Proceedings of the 2nd International Coeliac Symposium (eds. W.T.J.M. Heckens & A.S. Peña).
MTP Press Ltd., Lancaster.

38. Harms, K., Grandtisch, G., Rossipal, E., Ludwig, H., Polymenidis, Z., Scholz, S., Wank, R., Albert, E.D.,
HLA in patients with coeliac disease and their families.
In: Coeliac Disease: Proceedings of the Second International Coeliac Symposium, ed. by W.Th.J.M. Heckens, A.S. Peña, H.E. Stenfert, Kroese, B.V., Leiden (1974).

39. Harnak, G.-A. von,
Zöliakie (Herter-Heubnersche Krankheit).

Kinderheilkunde, 5. Auflage,
Springer Verlag, S. 270-272, (1980).

40. Hauptmann, G., Sasportes, M., Tongio, M.M., Mayer, S., Dausset, J.,
The localisation of the Bf locus within the MHS region on Chromosome no. 6.
Tissue Antigens, 7, 52-54, (1976).

41. Henker, J.,
Die Zöliakie im Kindesalter, Teil I: Geschichtliches, Häufigkeit, Pathogenese.
Zeitschrift für ärtzliche Fortbildung (Jena), 74 (22), S. 1046-1049, (1980).

42. Henker, J., Gebhardt, B.,
Assoziation zwischen HLA-System und Zöliakie.
Kinderärztliche Praxis, 48 (10), S. 539-542, (1980).

43. Heubner, O.,
Über schwere Verdauungsinsuffizienz beim Kind jenseits des Säuglingsalters.
Jb. Kinderheilkunde 70, 667, (1909).

44. Ilonen, J., Herva, E., Tiilikainen, A., Aakerblom, H.K., Koivukangas, T., Konvalainen, K., (1978),
HLA-Dw2 as a marker of resistance against juvenile diabetes mellitus.
Tissue Antigens 11: 144-146.

45. Johannsen, R.,
HLA-System.
Behring Institut, (1904-1979).

46. Joseph, B.S., Cooper, N.R., Oldstone, M.B.A., (1975), Immunologic injury of cultured cells infected with measles virus I. Role of IgG antibody and the alternative complement pathway. J. Exp. Med. 141: 761.

47. Kamer, J.H. vande, Weijers, H.A., Dicke, W.K., Coeliac Disease IV. An investigation into the injurious constituents of wheat in connection with their action on patients with coeliac disease. Acta paediat. (Uppsala) 42, 223, (1953).

48. Keuning, J.J., Peña, A.S., van Leeuwen, A., van't Hoof, J.P. & van Rood J.J., (1976), HLA-Dw3 associated with coeliac disease. Lancet i, 506-508.

49. Lachmann, P.J., Hobart, M.J., (1979b), The genetics of the complement system. Ciba Found Symp. 66: 231-250.

50. Lamm, L.U., Kristensen, T., Kissmeyer-Nielsen, F., Jorgensen, F., On the HLA-B,D map distance. Tissue Antigens 10, 394-398 (1977).

51. Lamm, L.U., Buskjaer, L., Petersen, G.B., Hauge, M., Svejgaard, A., (1980), Complement C 2 and C 4 and factor B allotypes in insulin dependent diabetes (IDD) in Denmark. Abstract, VIII International Histocompatibility Conference, Los Angeles.

52. Lauras, B., Freycon, M.T., Vial, M.T., Lepetit, J.C.,

Betuel, H.,
Maladie coeliaque: relations avec le group HL-A et formes familiales.
Pediatrie, 35 (6), S. 521-525, (1980).

53. Ludwig, H., Granditsch, G. & Polymenidis, Z., (1974), HL-A 8 and haplotpye HL-A 1-8 in coeliac disease. Journal of Immunogenetics, 1, 91.

54. Lilly, F.,
The influence of H-2-type on gross virus leukemogenesis in mice.
Transplant. Proc. 3, 1239 (1971).

55. Lilly, F.,
The histocompatibility 2 locus and susceptibility to tumor induction.
In "Murine Leukemia", Nat. Cancer Inst. Monogr. 22, 631-641, (1966).

56. Lilly, F., Boyse, E.A., Old, L.J.,
Genetic basis of susceptibility to viral leukemogenesis.
Lancet 2, 1207 (1966).

57. Lilly, F.,
Genetic Control of Immune Responsiveness, (M. Landy and H. McDevitt, des.), pp 279-288.
Academic Press, New York (1973).

58. Mackintosh, P., Asquith, P.,
HLA and coeliac disease.
British Medical Bulletin, 34 (3), S. 291-294, (1978).

59. Mauff, G., Bender, K., Fischer, B.,

Genetic polymorphism of the fourth component of human complement.
Vox Sang. (Basel) 34, 296-301 (1978).

60. Mc Neish, A.S., Nelson, R. & Mackintosh, P., (1973), HL-A 1 and 8 in childhood coeliac disease (Letter). Lancet, i, 668.

61. Meo, T., Atkinson, J.P., Bernoco, M., Bernoco, D., Ceppellini, R.,
Structural heterogeneity of C 2 complement protein and its genetic variants in man: A new polymorphism of the HLA-region.
Repr. from Proc. Natl. Acad. Sci USA,
Vol. 74 No. 4, pp 1672-1675 (1977), Genetics.

62. Meo, T., Atkinson, J., Bernoco, M., Bernoco, D., Ceppellini, R.,
Mapping of the HLA-locus controlling C 2 structural variants and linkage disequilibrium between alleles C 2^2 and Bw 15.
European Journal of Immunology, Vol. 6, No. 12, (1976).

63. Mylotte, M.J., Egan-Mitchell, B., Fottrell, P.F., McNicholl, B., McCarthy, C.F., (1972),
Q.J. Med. 41, 527-528.

64. Neild, G.H.,
Coeliac Disease: A graft-versus-host-like reaction localized to the small bowel wall?
Lancet, 1 (8224), S. 811-812, (1981).

65. Nerup, J., Cathelineau, Cr., Seignalet, J. & Thompsen, M., (1977),
HLA and Endocrine Diseases.

In: HLA and Disease, eds. Dausset, J. & Svejgaard, A., pp 149-167. Munksgaard, Copenhagen.

66. Nerup, J., Platz, P., Andersen, O.O., Cristy, M., Lyngsøe, J., Poulsen, J.E., Ryder, L.P., Nielsen, L., Staub, Thomsen, M., Svejgaard, A., (1974), HL-A antigens and diabetes mellitus. Lancet II: 864-866.

67. Ochs, H.D., Rosenfeld, S.J., Thomas, E.D., Giblett, E.R., Alper, C.A., Dupont, D., Schaller, J.G., Gillilaud, B.C., Hansen, J.A., Wedgweed, R.J., Linkage between the gene (or genes) controlling synthesis of the fourth component of complement and the major histocompatibility complex. New Engl. J. Med. 296, 470-475 (1977).

68. Olaisen, B., Teisberg, P., Gedde-Dahl, T., Thorsby, E., The Bf locus in the HLA region of chromosome 6: Linkage and association studies. Humangenetik 30, 291-296 (1975).

69. O'Neill, G., Yang, S.Y., Tegoli, J., Berger, R., Dupont, B., (1978a), Chido and Rodgers blood groups are distinct antigenic components of human complement C 4. Nature 273: 668-670.

70. Opitz, H., Schmidt, F., Handbuch der Kinderheilkunde, Band IV: Stoffwechsel, Ernährung, Verdauung. Springer Verlag (1965), S. 674-685.

71. Passarge, E., Valentine-Thon, E., Everything the pediatrician ever wanted to know about HLA but was afraid to ask.

European Journal of Pediatrics, 133 (2), S. 93-100, (1980).

72. Platz, P., Jakobsen, B., Dickmeiss, E., Ryder, L.P., Thomsen, M., Svejgaard, A., Nerup, J., Fog, T., (1977), Ia and HLA-D typing of patients with multiple sclerosis (MS) and insulin-dependent diabetes (IDD). Tissue Antigens 10: 192.

73. Reen, D.J., O'Regan, D., HLA antigen frequencies in an Irish population. Tissue Antigens, 15 (4), S. 369-372 (1980).

74. Rien, D., Pathogênie de la maladie coeliaque donées actuelles. Pediatrie, 35 (6), S. 487-491 (1980).

75. Rittner, Ch., Bertrams, J., On the significance of C 2, C 4 and factor B polymorphism in disease. Human Genetics 56, S. 235-247 (1981).

76. Rittner, Ch., Grosse-Wilde, H., Albert, E., Localisation of the Bf-locus within the HLA region. Report on an informative family and critical evaluation of available data on Bf mapping. Human Genet. 35, 79-82 (1976).

77. Rittner, Ch., Hauptmann, G., Grosse-Wilde, H., Grosshans, E., Tongio, M.M. & Mayer, S., (1975), In: Histocompatibility Testing 1975, ed. Kissmeyer-Nielsen, F. (Munksgaard, Copenhagen), pp 945-954.

78. Robinson, B.N., Roberts, D.R., Mather, B.A., Nelson, R., Rowla, A.S.,

Coeliac Disease and HLA: A family study.
Journal of Immunogenetics, 7 (5), S. 381-391 (1980).

79. Rood, J.J. van, Leeuwen, A. van, Keunig, J.J., Oud, B. van, Albas, A.,
The serologcial recognition of the human MLC determinants using a modified cytotoxity technique.
Tissue Antigens, 5, 73-79 (1975b).

80. Rood, J.J. van, Hoof, J.P. van, & Keunig, J.J. (1975), Disease predisposition, immune responsiveness and the fine structure of the HL-A supergene.
Transplantation Reviews, 22, 75.

81. Rubin, C.E., Brandborg, L.L., Phelps, P.C., Taylor, H.C., jr.,
Studies of celiac disease I. The apparent identical and specific nature of the duodenal and proximal jejunal lesion in celiac disease and idiopathic sprue.
Gastroenterology 38, S. 28-49 (1960).

82. Rubinstein, P., Suciu-Foca, N., Nicholson, J.F., (1977), Genetics of juvenile diabetes mellitus. A recessive gene closely linked to HLA-D and with 50 % penetrance.
N. Engl. J. Med. 297: 1036.

83. Schaad, U., Gaze, H., Hadorn, B., Pedrinis, E., Cottier, H., Lorenz, E., Colombo, J.P.,
Der Blutxylosetest im Kindesalter: Korrelation des 1-Stunden Blutxylosewertes mit der Anzahl intraepithelial gelegener Lymphozyten in der Dünndarmschleimhaut bei der Zöliakie.
Helv. Paediat. Acta 30, 331-341 (1975).

84. Scholz, S., Rossipal, E., Brautbar, Ch., Ashkenazi, A., Harms, K., Betuel, H., Freycon, F., Shmerling, D.H., McKenna, R., Stevens, F.S., McNicholl, B., McCarthy, C.F., Albert, E.D.,
HLA-DR Antigens in Coeliac Disease. A population and multiple case family study.
The Genetics of Coeliac Disease; ed. by R.B. Mc Connell, S. 143-149 (1981).

85. Scholz, S., Albert, E.D.,
Vererbung der HLA-gekoppelten Krankheitsempfänglichkeit bei Zöliakie.
MMW, 122 (16), S. 602-604 (1980).

86. Schwerk, W., Braun, B., Böger, A., Schmitz-Moormann, P.,
Primäres Hodgkin-Sarkom des Dünndarms bei Sprue-Syndrom mit Steatorrhoe.
Zeitschrift für Gastroenterologie, 15, S. 240-245 (1977).

87. Seah, P.P., Fry, L., Kearney, J.W., Campbell, E., Mowbray, J.F., Stewart, J.S. & Hoffbrand, A.V., (1976),
A comparison of histocompatibility antigens in dermatitis herpetiformis and adult coeliac disease.
British Journal of Dermatology, 94, 131.

88. Shiner, M., Doniach, J.,
Histopathologic studies in steatorrhoea.
Gastroenterology 38, S. 419-440 (1960).

89. Shmerling, D.H.,
Peroral intestinal mucosal biopsies in infants and children.
Helv. Paed. Acta, Supple. XXII, 1970.

90. Singal, D.P., Blajchman, M.A., (1973),

Histocompatibility (HLA-A) antigens, lymphocytotoxic antibodies and tissue antibodies in patients with diabetes mellitus.
Diabetes 22: 249.

91. Solheim, B.G., Ek, J., Thune, P.O., Baklien, K., Bratlie, A., Ranklin, B., Thoresen, A.B. & Thorsby, E., (1976),
HLA antigens in dermatitis herpetiformis and coeliac disease.
Tissue Antigens, 7, 57.

92. Spielmann, R.S., Baker, L., Zmijewski, C.M., (1979), Inheritance of susceptibility to iuvenile onset diabetes.
In: Sing, C.F., Skolnik (eds.), Genetic analysis of common diseases: applications to predictive factors in coronary disease. Alan R. Liss, New York, p 567.

93. Stevens, F.M., Egan-Mitchell, B., Watt, D.W., Baker, S.H., McNicholl, B. & McCarthy, C.F., (1978),
In: McNicholl, B., McCarthy, C.F. & Fottrell, P.F., (eds.), Perspectives in coeliac disease, pp. 137-143. (Proceedings of the Third International Coeliac Symposium, Galway, 1977). MTP Press, Lancaster.

94. Stokes, P.L., Asquith, P., Holmes, G.K.T., Mackintosh, P. & Cooke, W.T., (1972),
Histocompatibility antigens associated with adult coeliac disease.
Lancet II, 162.

95. Stokes, P.L., Asquith, P., Holmes, G.K.T., Mackintosh, P. & Cooke, W.T., (1973),
Inheritance and influence of histocompatibility (HL-A)

antigenes in adult coeliac disease.
Gut., 14, 625.

96. Stosiek, P., Varga, A.,
Zelluläre Sensibilisierung gegen Gluten bei der Coeliakie. Nachweis mittels des Leukozyten-Adhärenz-Inhibitionstests.
Dtsch. med. Wochenschrift, 105 (3), S. 88-91 (1980).

97. Svejgaard, A., Platz, P., Ryder, L.P., Staub, Nielson, L. & Thomsen, M., (1975),
Transplant. Rev. 22, 3-43.

98. Svejgaard, A., Platz, P., Ryder, L.P., (to be published)
Insulin dependent diabetes mellitus: Joint results of the 8th Workshop study, Histocompatibility testing 1980.

99. Teisberg, P., Akesson, J., Olaisen, B., Gedde-Dahl, T., Thorsby, E.,
Genetic polymorphism of C 4 in man and localisation of a structural C 4 locus to the HLA-gene complex of chromosome 6.
Nature (London) 264, 253-254 (1976).

100. Teisberg, P., Olaisen, B., Jonassen, R., Gedde-Dahl, T., Thorsby, E.,
The genetic polymorphism of the fourth component of human complement: methodological aspects and a presentation of linkage and association date relevant to its localisation in the HLA region.
J. exp. Med. 146, 1380-1389 (1977).

101. Teisberg, P., Fausa, O., Baklien, K., Akesson, J.,
Complement system studies in adult coeliac disease.
Scand. Journal of Gastroenterology, 12, S. 873-876 (1977).

102. Terasaki, P.I., McClelland, J.D.,
Microdroplet assay of human serum cytotoxins.
Nature (London) 206, 998 (1964).

103. Thomsen, G., Bodmer, W.F., (1977),
The genetic analysis of HLA and disease associations.
In: Dausset J., Svejgaard, A. (eds.), HLA and disease.
Munksgaard, Copenhagen, p 84.

104. Thomsen, M., Platz, P., Andersen, O.O., Christy, M.,
Lyngsøe, J., Nerup, J., Rasmussen, K., Ryder, L.P.,
Nielsen, L., Staub, Svejgaard, A., (1975),
MLC typing in iuvenile diabetes mellitus and idiopathic Addison's disease.
Transplant. Rev. 22: 125.

105. Werner, C., Klauda, P.T., Correa, M.G., Vasalli, P.,
Jeannet, M.,
Isolation of B and T-lymphozytes by Nylon fiber collumns.
Tissue Antigens, Vol. 9, No. 4, pp 227-229 (1977).

106. Woodrow, J.C.,
The HLA-System. The genetics of coeliac disease.
ed. by R.B. Mc Connel, (1979).

107. Woolf, B.,
On estimating the relation between blood group and disease.
Ann. hum. Genet. 19, 251-253 (1955).

108. Zugehoer, M., Bannert, N., Morenz, J.,
Immunpathogenese und Immundiagnostik der Zöliakie im Kindesalter.
Kinderärztliche Praxis, 46 (1), S. 1-9 (1978).

LEBENSLAUF

Als zweitgeborene Tochter der Angestellten-Eheleute Erich und Maria Dworschak, geborene Tutsch, wurde ich am 18. 9. 1958 in Landshut geboren.

Vom sechsten bis zum zehnten Lebensjahr besuchte ich in Ergolding bei Landshut vier Klassen Volksschule und trat 1968 in das Gymnasium der Zisterzienserinnenabtei Seligenthal in Landshut ein, wo ich 1977 das Abitur ablegte. Anschließend begann ich das Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München.

1979 legte ich die ärztliche Vorprüfung, 1980 den ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung und 1982 den zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung ab.

Im Herbst 1983 schloß ich mein Studium mit dem dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung erfolgreich ab.